

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL



INSTITUTO DE QUÍMICA



**USO DE PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO DE
EXPERIMENTOS APLICADOS A SISTEMAS DE
ADSORÇÃO**

Jorge de Lima Brasil

Tese de Doutorado

**Porto Alegre-RS
Novembro de 2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Jorge de Lima Brasil

**USO DE PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO DE
EXPERIMENTOS APLICADOS A SISTEMAS DE
ADSORÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química.

Prof. Dr. Éder Cláudio Lima
Orientador

**Porto Alegre-RS
Novembro 2010.**

A presente tese foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre (outubro/2004) a (novembro/2010), no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob orientação do Professor Doutor Éder Cláudio Lima. A tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Emerson Schwingel Ribeiro
UFRJ

Prof. Dr. Flávio André Pavan
UNIPAMPA

Prof. Dr. Edilson Valmir Benvenutti
UFRGS

Prof. Dr. Tânia Maria Haas Costa
UFRGS

Prof. Dr. Éder Cláudio Lima
UFRGS

Orientador: Prof. Dr. Éder Cláudio Lima

Doutorando: Jorge de Lima Brasil

DEDICO ESSA TESE AOS MEUS PAIS,

FAMILIARES E À MINHA ESPOSA.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ter me fortalecido em momentos difíceis e complicados da minha vida.

Também agradeço a todos os servidores Técnicos Administrativos do Instituto de Química e aos Professores em exercício e aposentados do setor de Química Analítica Clássica pelo apoio e incentivo.

Ofereço os meus mais sinceros agradecimentos para todos os alunos de Iniciação Científica, Monitores, Funcionários e Professores que colaboraram direta ou indiretamente com essa Tese.

Agradeço em especial ao Professor Sílvio Luís Pereira Dias e ao Servidor Júlio César Pacheco Vaguetti por serem meus amigos em qualquer situação, demonstrando que são amigos de coração.

Ao meu Orientador e eterno amigo, expresso os meus mais estimados agradecimentos em virtude do seu apoio, incentivo, cobrança, acolhimento e dedicação ao término dessa tese. Nós enfrentamos juntos muitas situações de extrema adversidade no passado e no presente, mas isso fortaleceu a nossa amizade e respeito mútuo.

Do mesmo modo expresso meus agradecimentos para todos os Funcionários e Professores da Escola Técnica em Saúde no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Dedico essa tese ao meu Pai Borges Rocal Brasil, a Minha Mãe Maria Ilma de Lima Brasil e a minha eterna paixão Márcia Campos Brasil.

Suplico a Deus que eu possa oferecer compreensão, carinho, dedicação e amor ao invés de qualquer outro sentimento oposto aos citados, para todos aqueles que fazem parte da minha vida.

LISTA DE TRABALHOS GERADOS A PARTIR DOS RESULTADOS DESCRITOS NA TESE

1. Brasil, J.L., Martins, L.C., Ev, R.R., Dupont, J., Dias, S.L.P., Sales, J.A.A., Airoldi, C., Lima, E.C. “*Factorial design for optimization of flow-injection preconcentration procedure for copper (II) determination in natural waters, using 2-aminomethylpyridine grafted silica gel as adsorbent and spectrophotometric detection*”. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, **2005**, v.85, pp. 475-491. DOI: [10.1080/03067310500117350](https://doi.org/10.1080/03067310500117350)
2. Brasil, J.L., Ev, R.R., Milcharek, C.D., Martins, L.C., Pavan, F.A., dos Santos Júnior, A.A., Dias, S.L.P., Dupont, J., Noreña, C.P.Z, Lima, E.C. “*Statistical Design of Experiments as a tool for optimizing the batch conditions to Cr(VI) biosorption on Araucaria angustifolia wastes*”. **Journal of Hazardous Materials**, **2006**, v.133, pp. 143-153. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2005.10.002](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.10.002)
3. Brasil, J.L., Vaghetti, J.C.P., Royer, B., dos Santos Jr., A.A., Simon, N.M., Pavan, F.A., Dias, S.L.P., Lima E.C. “*Planejamento estatístico de experimentos como uma ferramenta para otimização das condições de biossorção de Cu(II) em batelada utilizando-se casca de nozes pecã como biossorvente*”. **Química Nova**, **2007**, v.30, pp 548-553.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPSG: 2-aminometilpiridina ancorada em sílica gel

DDTC: Dietilditiocarbamato de sódio

(GFAAS): Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite

ICP-MS: Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

FAAS: Espectrometria de absorção atômica com chama

ICP-AES: Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado

Sumário

Abstract.....	ix
First work	ix
Second work	ix
Third Work	x
Resumo.....	xi
Primeiro Trabalho	xi
Segundo Trabalho	xi
Terceiro Trabalho	xii
1 - Planejamento Fatorial	1
2 - Planejamento Fatorial para a Otimização do Procedimento de Pré-concentração por Injeção de Fluxo para Determinação de Cobre (II) em [Águas Naturais Utilizando 2-Aminometilpiridina Enxertada em Sílica Gel como Adsorvente Empregando Detecção Espectrofotométrica.....	3
2.1 Experimental.....	5
2.1.1 Sistema de Fluxo.....	5
3 - Planejamento Fatorial de Experimentos como uma Ferramenta para Otimizar as Condições de Bioissorção de Cr(VI) em Casca de Pinhão	9
3.1 – Experimental.....	11
3.1.1 – Preparação do Bioissorvente	11
3.1.2 Procedimento de Bioissorção em Batelada de Cromo (VI).....	11
4 - Planejamento Estatístico de Experimentos como Uma Ferramenta para Otimização das Condições de Bioissorção de Cu(II) em Batelada Utilizando-se Casca de Nozes Pecã como Bioissorvente.....	13
4.1 Experimental.....	15
4.1.1 Preparação do bioissorvente	15
4.1.2 Reagentes e soluções.....	15
4.1.3 Procedimento de bioissorção em batelada de Cu ²⁺	16
4.1.4 Determinação de Cu ²⁺	17
5- Conclusões	20

5.1- Primeiro Trabalho	20
5.2- Segundo Trabalho	20
5.3- Terceiro Trabalho	21
6 – Referências	22
Anexos	28

Abstract

First work

The 2-aminomethylpyridine anchored silica gel (AMPSG) was successfully employed as a sorbent in a flow system for Cu^{2+} preconcentration in real water samples. Copper (II) containing sample solutions merged with acetate buffer solution at pH 6.0 were percolated through a mini-column placed in the central part of proportional injector-commutator to preconcentrate. The column was inserted in the eluent channel in HNO_3 0.60 mol dm^{-3} and the retained analyte was counterflow eluted from the column. In first confluence point, the analyte sample zone merged with an acetate buffer solution at pH 6.0 and in the second confluence point the buffered sample zone merged with $8.7 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ of sodium diethyldithiocarbamate, to form copper-DDTC in 1:2 complex proportion and subsequently directed to a flow-cell (460 nm) of a spectrophotometer placed downstream. The system was optimized in order to determine the analyte in the water samples such as those from river, tape, stream, spring, well, waste, synthetic brackish water and in a water reference material (NIST-1640). The better conditions used were: 120 s loading, 60 s elution, 30 s regeneration of the column, loading flow rate 5.0 mL min^{-1} , buffer solution for the preconcentration and regeneration of the column-acetate buffer pH 6.0, elution flow rate 2.3 ml min^{-1} , time of elution 60 s, eluent composition, $0.60 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HNO}_3$. Under these conditions, the preconcentration factor obtained was 54.4, and the detection limit achieved was 8.0 ng mL^{-1} . The recovery of spiked water samples ranged from 95.2 to 104.7%.

Second work

In order to reduce the total number of experiments for achieving the best conditions for Cr(VI) uptake using *Araucaria angustifolia* (named pinhão) wastes as a biosorbent, three statistical design of experiments were carried-out. A full 2^4 factorial design with two blocks and two central points (20 experiments) was experimented (pH, initial metallic ion concentration- Co, biosorbent concentration- X, time of contact- t), showing that all the factors were significant besides of several interaction among the factors were also significant. These

results led to the performance of a Box-Behnken surface analysis design with three factors (X, Co, t) and three central points and just one block (15 experiments). The performance of these two statistical designs of experiments led to the best conditions for Cr(VI) biosorption on the pinhão wastes using a batch system, which where: pH=2.0; Co= 1200 mg L⁻¹ Cr(VI); X= 1.5 g L⁻¹ of biosorbent; t= 8 h. The maximum Cr(VI) uptake in these conditions was 125 mg g⁻¹. After evaluating the best Cr(VI) biosorption conditions on pinhão wastes, a new Box-Behnken surface analysis design was employed in order to verify the effects of three concomitant ions (Cl⁻, NO₃⁻ and PO₄³⁻) on the biosorption of Cr(VI) as a dichromate on the biosorbent (15 experiments). These results showed that the tested anions did not show any significant effect on the Cr(VI) uptake by pinhão wastes. In order to evaluate the pinhão wastes as a biosorbent in dynamic system, a glass column was fulfilled with pinhão wastes (4.00 g) as biosorbent, and it was feed with 25.0 mg l⁻¹ Cr(VI) at pH 2.0 and 2.5 ml min⁻¹. The breakpoint was attained at concentrations of effluent of the column attained the value of 0.05 mg l⁻¹ Cr(VI) using 5550 ml of the metallic ion solution. In these conditions, the biosorbent was able to remove completely Cr(VI) from aqueous solution with a ratio of Cr(VI) effluent volume /biosorbent volume of 252.3.

Third Work

In order to reduce the total number of experiments for achieving the highest amount adsorbed (q_{max}) of Cu²⁺ using pecã nutshell (*Carya illinoensis*) as biosorbent, a full 2⁴ factorial design with two central points was carried-out (mass of biosorbent- m, pH, initial metallic ion concentration- Co, time of contact- t). In order to continue the optimization of the system, a central composite surface analysis design with two factors and five central points were carried-out. The maximum amount of Cu²⁺ uptaken by the pecã nutshell was 20 mg g⁻¹. These results were confirmed by performing a Cu²⁺ isotherm using the best conditions attained by the statistical design of experiments.

Resumo

Primeiro Trabalho

A 2-aminometilpiridina ancorada em sílica gel (AMPSG) foi utilizada com sucesso como um adsorvente em um sistema de fluxo simples espectrofotométrico para pré-concentração de Cu^{2+} em amostras de água natural, utilizando dietilditiocarbamato de sódio como agente cromogênico (460 nm). O sistema foi otimizado utilizando um modelo fatorial completo 2^5 , com a finalidade de encontrar as melhores condições para a determinação analítica de cobre, em amostras de água natural e de uma água certificada (NIST-1640) para validar o procedimento. As melhores condições utilizadas foram: 180 s para pré-concentração; 30 s para eluição; 30 s para regeneração da coluna; vazão para pré-concentração das amostras de 6.6 mL min^{-1} ; concentração do eluente igual a $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ em HNO_3 , vazão de eluição igual a 1.6 mL min^{-1} e solução tampão acetato (pH 5,75) para a pré-concentração e regeneração da coluna. Sob estas condições, o fator de pré-concentração obtido foi de 77 e o limite de detecção alcançado foi de $3,0 \text{ ng mL}^{-1}$. Os percentuais de recuperação da água enriquecida nas amostras variam de 95,2 a 104,7%.

Segundo Trabalho

A fim de reduzir o número total de experimentos para alcançar as melhores condições para adsorção de Cr(VI) em resíduos de *Araucaria angustifolia* (casca de pinhão), utilizada como biossorvente, três planejamentos experimentais foram realizados. Um planejamento fatorial completo 2^4 com dois blocos e 4 pontos centrais (20 experimentos) foi realizado, sendo o pH, concentração inicial do íon metálico (Co), dosagem de biossorvente (X) e tempo de contato (t) os fatores principais. O planejamento demonstrou que todos esses fatores foram significativos e que algumas interações entre esses fatores também foram significativas. Esses resultados conduziram para uma análise de superfície resposta do tipo Box-Behnken com três fatores (X , Co , t) e três pontos centrais e apenas um bloco conduzindo a um total de 15 experimentos. O desempenho desses dois modelos estatísticos de

experimentos permitiram a obtenção das melhores condições para a biossorção de Cr(VI), sobre resíduos de casca de pinhão utilizando-se um sistema de batelada, as quais foram pH = 2,0; Co = 1200 mg L⁻¹ de Cr(VI), X = 1,5 mg L⁻¹; t = 8 h. A quantidade máxima de Cr(VI) adsorvido nestas condições foi de 125 mg g⁻¹. Depois de avaliar as melhores condições de biossorção de Cr(VI) sobre resíduos de pinhão, uma nova análise de superfície foi empregada, a fim de verificar os efeitos concomitantes de três íons (Cl⁻, NO³⁻ e PO₄³⁻) sobre a biossorção de Cr (VI) na forma de dicromato sob o biossorvente (15 experimentos). Esses resultados indicaram que os ânions testados não mostraram nenhum efeito significativo sobre a biossorção de Cr(VI) em resíduos de pinhão. Para avaliar o emprego de resíduos de casca de pinhão como um biossorvente em sistema dinâmico, uma coluna de vidro foi construída com resíduos de casca de pinhão (4,00 g) como biossorvente, sendo alimentada com uma solução de concentração igual a 25,0 mg L⁻¹ de Cr(VI) em pH 2,0 e vazão de 2,5 mL min⁻¹. A interrupção foi realizada, quando atingiu-se a concentração de 0,05 mg L⁻¹ no efluente percolado através da coluna. O limite permitido de Cr(VI) nas alíquotas recolhidas foi atingido com 5.550 ml da solução de Cr(VI) percolados através da coluna. Nestas condições, o biossorvente foi capaz de remover o Cr(VI) da solução aquosa com uma razão volume de efluente de Cr(VI) / volume de biossorvente igual a 252,3.

Terceiro Trabalho

Para reduzir o número total de experimentos para se obter a máxima quantidade adsorvida de Cu²⁺ usando a casca de noz pecã (*Carya illinoensis*) como biossorvente, um planejamento fatorial completo 2⁴ com dois pontos centrais foi realizado, sendo o pH, massa de biossorvente (m), concentração inicial do íon metálico (Co) e tempo de contato (t) os fatores a serem avaliados. Para continuar a otimização do sistema, uma análise de superfície de resposta com composto central foi executada, utilizando dois fatores e cinco pontos centrais.

Após essa otimização, foi realizada uma isoterma de adsorção de Cu²⁺ empregando a casca de noz pecã como biossorvente utilizando-se as condições otimizadas obtidas dos planejamentos estatísticos de experimentos. A quantidade máxima adsorvida de Cu²⁺ foi igual a 20 mg g⁻¹.

1 - Planejamento Fatorial

O planejamento fatorial [1] de experimentos é estruturado por um conjunto de técnicas estatísticas que proporcionam um método estruturado para planejar, executar e analisar experimentos. Por intermédio de um planejamento experimental, pode-se determinar as variáveis que exercem efeito sobre a resposta.

O planejamento de experimentos é empregado na determinação da combinação ideal de variáveis, para que se obtenha a melhor resposta possível para um determinado experimento. A resposta é a variável dependente, enquanto que as variáveis que a influenciam, são as variáveis independentes, denominadas de fatores.

A combinação dos fatores somente pode ser avaliada empregando um planejamento fatorial, visto que um enfoque univariado, o qual é amplamente empregado na prática, não permite avaliar o conjunto dos fatores ao mesmo tempo.

O planejamento fatorial de experimentos permite estimar os efeitos de diversos fatores, bem como as suas interações sobre a variável resposta. Para isto, deve-se selecionar os níveis em que cada fator irá atuar.

Em qualquer ramo da atividade humana, sempre é de interesse que se conheça, quais são as variáveis importantes, para que se execute com excelência determinado processo, assim são importantes os limites inferiores e superiores dos valores aplicados às variáveis em investigação.

Desta forma é necessário à escolha de um valor máximo e um mínimo para as variáveis e a execução de corridas experimentais com a finalidade de obter dados para otimização experimental.

O planejamento fatorial de experimentos é uma técnica estatística robusta que vem sendo utilizada amplamente na atualidade. O seu emprego possibilita, aos mais variados ramos da atividade científica, que se determine os fatores e as combinações de fatores que exercem a maior influência no desempenho de um determinado processo experimental. Desta forma, resultando em uma redução de tempo e custo operacional e de uma melhora no rendimento de um determinado processo a partir das respostas obtidas através do planejamento fatorial.

Os métodos de otimização surgiram em função da necessidade de aprimoramento de desempenho dos mais diversos sistemas. Literalmente, otimização corresponde a tornar algo "tão perfeito, efetivo ou funcional quanto for possível". Desta forma, podemos definir otimização como sendo um processo baseado em instruções que permitam obter o melhor resultado de uma dada situação.

Cientificamente estas instruções são freqüentemente expressas através de métodos matemáticos que procuram maximizar ou minimizar alguma propriedade específica do sistema em estudo. É na escolha desta propriedade a ser otimizada e das condições de controle que se encontra grande parte das discussões sobre qual a melhor indicação para um desempenho ideal do sistema. Em diversas circunstâncias, esta propriedade, a ser otimizada, é denominada de função objetiva ou resposta.

O planejamento fatorial tem sido muito aplicado em pesquisas básicas e tecnológicas e é classificado como um método do tipo simultâneo, onde as variáveis de interesse que realmente apresentam influências significativas na resposta são avaliadas ao mesmo tempo. Para realizar um planejamento fatorial, escolhem-se as variáveis a serem investigadas e efetuam-se experimentos em diferentes valores dos fatores de interesse.

De um modo geral, o planejamento fatorial pode ser representado por b^a , onde "a" é o número de fatores e "b" é o número de níveis escolhidos para cada fator.

Nos planejamentos experimentais onde as variáveis são exploradas em 2 níveis é comum codificá-los usando os sinais (+) e (-). A atribuição destes sinais aos níveis superiores ou inferiores é feita de forma arbitrária e não interfere na realização dos experimentos ou interpretação dos resultados, além de permitir esquematizar o planejamento na forma de matrizes de planejamento [1].

Esta codificação de variáveis, embora pareça desnecessária, é de grande utilidade, quando se realizam os cálculos para determinar qual a influência das variáveis estudadas e das suas interações no sistema em estudo.

2 - Planejamento Fatorial para a Otimização do Procedimento de Pré-concentração por Injeção de Fluxo para Determinação de Cobre (II) em [Águas Naturais Utilizando 2-Aminometilpiridina Enxertada em Sílica Gel como Adsorvente Empregando Detecção Espectrofotométrica

A determinação de elementos potencialmente tóxicos em amostras ambientais tem sido uma preocupação comum em toda sociedade. Normalmente, os níveis desses elementos encontrados em amostras ambientais são muito baixos, exigindo o uso de técnicas com alto poder de detecção, tais como a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) [2-4] e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) [5, 6].

Nos países em desenvolvimento, essas técnicas analíticas não são largamente empregadas devido ao seu elevado custo de implementação e de manutenção [2-6]. Uma alternativa interessante para a determinação de baixos níveis de elementos potencialmente tóxicos em amostras ambientais é a utilização de um procedimento de pré-concentração. Dentre os vários tipos de métodos de pré-concentração, a extração em fase sólida, o uso de adsorventes quelantes [7-13] e de colunas de troca iônica [14-16] são os métodos mais valiosos, já que não exigem a utilização de solventes orgânicos tóxicos, o que geraria grandes quantidades de resíduos que precisam ser tratados posteriormente, além de serem procedimentos de alto tempo de análise, conduzindo a um número reduzido de amostras por dia de trabalho [15-17].

A sílica modificada com diferentes grupos orgânicos é um dos mais bem sucedidos adsorventes utilizados em laboratórios de análise, porque a sílica não incha ou encolhe como resinas poliméricas [14] e não modifica materiais de ocorrência natural [18]; isto significa que o adsorvente de sílica modificada pode ser utilizado para vários ciclos de pré-concentração, porque, a retenção por processos de adsorção, quelação e troca iônica são geralmente reversíveis

[13, 19]. A sílica modificada é útil para aplicações em solvente aquoso e orgânico [13, 19], devido à sua boa estabilidade térmica, mecânica, química [13, 19] e adequada acessibilidade dos íons para o ataque de grupos quelantes, o que permite níveis elevados de pré-concentração [13, 19]. Sistemas de análise por injeção em fluxo, usando mini-colunas empacotadas com um adsorvente adequado para pré-concentração de diversos analitos em muitos tipos diferentes de amostras, têm sido utilizados com sucesso [15-17].

Estes procedimentos apresentam várias vantagens em relação aos processos de pré-concentração em coluna convencionais. Como exemplo, o tempo total de pré-concentração pode ser reduzido de várias horas ou para apenas um ciclo [15, 16], de apenas alguns minutos, aumentando assim, notavelmente o número de amostras analisadas por ciclo de trabalho. Além disso, existe uma maior repetibilidade das medições obtidas com sistemas de análise por injeção em fluxo [17], os riscos de contaminação são reduzidos, porque existem menos operações manuais [15-17] e há um menor consumo de amostras e de reagentes [15-17].

Sistemas de pré-concentração por análise em fluxo apresentam várias vantagens, principalmente, quando comparados com a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) [20-32] e a espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) [32-37]. Por outro lado, as aplicações em que sistemas de pré-concentração por injeção em fluxo estão acoplados a espectrofotometria para a determinação de íons metálicos são raras [38, 39]. Também, o emprego de sílica gel organofuncionalizada como um adsorvente para determinação de Cu^{2+} , usando sistemas por análise de injeção em fluxo, tem sido raramente utilizado [25, 39], existindo, desse modo, uma necessidade de explorar isso mais amplamente.

O desempenho de um sistema de pré-concentração em fluxo requer a otimização de várias variáveis. Convencionalmente, na otimização de um sistema, cada parâmetro é variado com o tempo, e os outros são fixos. Ao usar o modo convencional, ou seja, univariável, não é possível avaliar as interações entre diferentes variáveis [40], o que limita a otimização global do sistema [33, 40, 41]. A fim de superar essas dificuldades, um planejamento fatorial pode ser utilizado, onde todas as variáveis são alteradas simultaneamente [40] e a otimização máxima do sistema pode ser alcançada, com um número mínimo de

experimentos [33, 40, 41]. Nesta investigação científica, o adsorvente 2-aminometilpiridina enxertada em sílica gel [42] (AMPSG) foi utilizado com sucesso para a pré-concentração de cobre (II) em amostras de água natural.

Um sistema de pré-concentração com fluxo em linha do analito foi empregado, estando este acoplado a um detector espectrofotométrico ajustado em 460 nm, sendo utilizado dietilditiocarbamato de sódio (DDTC) como agente cromogênico. O sistema foi otimizado, empregando um planejamento fatorial completo 2^5 (32 experimentos), a fim de encontrar as melhores condições analíticas para pré-concentração de cobre e a redução do número total de experimentos para atingir esse objetivo.

2.1 Experimental

2.1.1 SISTEMA DE FLUXO

Para determinação de Cu^{2+} em amostras de água, foi utilizado um injetor-comutador proporcional [43] confeccionado em acrílico, contendo uma secção 2:3:2 para adaptação da alça de amostragem e uma secção 0:1:2 para introdução do agente cromogênico intermitentemente. A parte central do injetor é móvel e suas laterais são fixas.

Uma mini-coluna foi colocado na posição central do injetor sendo utilizada para pré-concentração do analito. Além disso, duas bombas peristálticas (Milan, Colombo-PR), linhas de transmissão de polietileno de 0,8 milímetros de diâmetro interno, conectores em acrílico, célula em fluxo (150 μL) e um espectrofotômetro (Femto 600S, São Paulo-SP) foram empregados e montados conforme representado na figura 1. Na posição de pré-concentração (posição I, figura 1A), a solução de amostra e a solução-tampão B_1 (tampão acetato 2,0 mol L^{-1} , pH 5,75) foram misturadas no ponto de confluência X, então estas soluções foram misturadas na bobina C_1 (100 μL) e direcionadas para a mini-coluna, para sorção do analito presente na solução de amostra, e a solução aquosa foi direcionada para o descarte W_S .

O reagente cromogênico ($8,7 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} DDTC) R1 foi bombeado para o frasco de regeneração Reg_1 . No segundo canal, a solução eluente E (HNO_3) foi

bombeada para limpeza do sistema, onde no ponto de confluência Y se fundiu com a solução tampão B₂ (2,0 mol L⁻¹ acetato tampão, pH 5,75) sendo misturadas na bobina C₂ (200 µL). Em seguida, no ponto de confluência Z é adicionado o reagente cromogênico a zona da amostra tamponada, posteriormente a mistura chega à bobina C₃ (200 µL); esta zona de amostragem passa ao longo da célula de fluxo (150 µl) do espectrofotômetro (460 nm), produzindo a linha de base, sendo posteriormente, esta solução direcionada para os resíduos (W).

Após o período de pré-concentração, a parte central do injetor-comutador foi deslizado para a posição II (figura 1B), e a mini-coluna foi inserida na linha do eluente para eluição do analito retido. No ponto de confluência Y, a zona de amostra entra em contato com a solução tampão B₂, ocorrendo a mistura na bobina C₂; então, a zona de amostragem tamponada atinge o ponto de confluência Z em que se funde com o reagente cromogênico, sendo ambos misturadas na bobina de reação C₃ (200 µL) onde se forma o complexo de [Cu²⁺(DDTC)₂] [44,45]. Esta zona é posteriormente direcionada para a célula de fluxo do espectrofotômetro (460 nm), produzindo um sinal transiente e, finalmente, esta zona é direcionada para o frasco de resíduo (W).

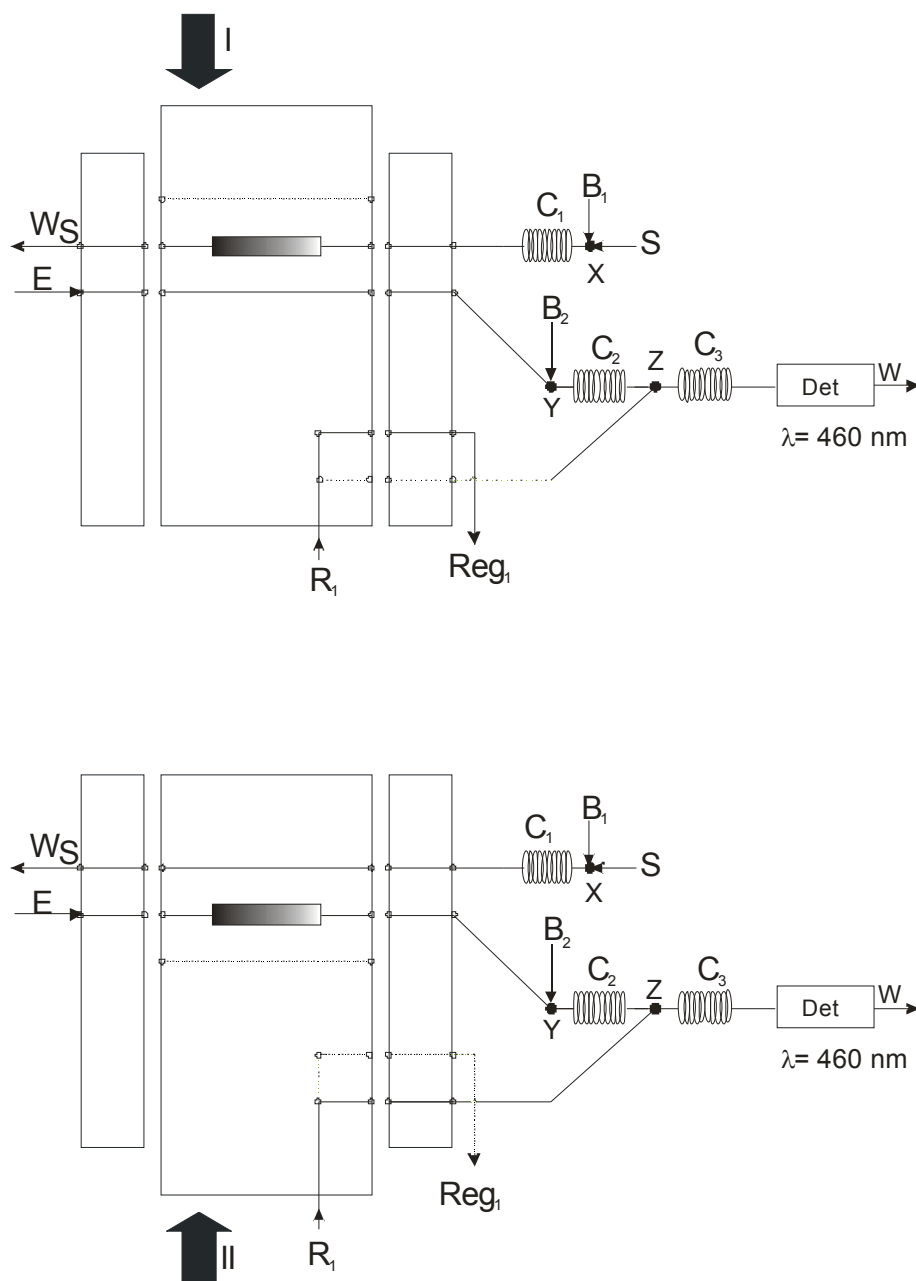


Fig 1- Diagrama esquemático do sistema de preconcentração em fluxo.

Esquema empregado para a determinação de Cu^{2+} em amostras da água. (A) posição de amostragem utilizando o sistema de pré-concentração. (B) posição de eluição do sistema de pré-concentração. B_1 : solução tampão acetato $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ para pré-concentração ($\text{pH } 5,75$) 4.5 mL min^{-1} ; S : amostra de solução ($\text{pH } 1$) 5.0 mL min^{-1} ; C_1 : bobina reatora ($100 \mu\text{L}$) para a mistura de amostra e solução tampão B_1 ; WS : descarte da solução da amostra e tampão B_1 ; E : $0,60 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$. 2.6 mL min^{-1} ; R_1 $8,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ DDTTC}$ 2.2 mL min^{-1} ; Reg_1 : regeneração de DDTC ; B_2 : $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ solução tampão acetato

(pH 5,75) para reação de complexação e ajuste de pH (cor) 2.6 mL min^{-1} ; C₂: bobina reatora (100 μL) para ajuste final de pH de amostra; C₃: bobina reatora (200 μL) para desenvolvimento de formação do complexo; Det: célula de fluxo espectrofotométrico. 150 μL . $\lambda = 460 \text{ nm}$. X, Y, Z: pontos de confluência.

3 - Planejamento Fatorial de Experimentos como uma Ferramenta para Otimizar as Condições de Biossorção de Cr(VI) em Casca de Pinhão

O cromo (VI) é largamente empregado na indústria química para eletro galvanização, fabricação de corantes e pigmentos, em curtume de couro, na preservação de madeira, na confecção de baterias, como inibidor de ferrugem e corrosão, em têxteis, borrachas, toner para máquinas copadoras e em plantas produtoras de cimento [46]. Fluxos de resíduos a partir de todas essas indústrias podem descartar Cr(VI) em vias aquosas [46] causando graves impactos ao ambiente [47]. Além disso, o cromo (VI) tem sido relatado como cancerígeno para os seres humanos [46]. A quantidade máxima permitida de Cr(VI) em águas naturais é de apenas 0,05 mg L⁻¹ [46].

Desta forma, o Cr(VI) deve ser removido de efluentes industriais, antes dos mesmos serem descartados no meio ambiente. Os procedimentos comuns para eliminação de Cr(VI) proveniente de efluentes industriais incluem precipitação química [48], utilização de resinas de troca iônica [49], grupos orgânicos enxertados sobre têxteis [50] e a separação por membranas específicas [51]. A precipitação química é normalmente empregada no início do tratamento de efluentes, porém para atingir a concentração residual da espécie tóxica no efluente em nível aceitável de acordo com a legislação, outras operações são necessárias.

Não obstante o emprego de resinas de troca iônica, de têxteis modificados ou uso de membranas específicas são adequados para proporcionar a remoção de concentrações residuais de elementos tóxicos de efluentes industriais, contudo, estes procedimentos são muito caros, dificultando a sua ampla aplicação em tratamentos de efluentes industriais [49-51].

Carvão ativado tem sido amplamente utilizado como o mais popular adsorvente para o tratamento de efluentes [52, 53]. Porém a ampla utilização de carvão ativado de alta qualidade continua onerosa [52,53]. Além disso, o carvão ativado requer o uso de agentes quelantes para a remoção de espécies inorgânicas, tornando-se esse procedimento ainda mais caro. Devido ao alto custo dos adsorventes comerciais, a biossorção é uma forma viável

economicamente para a realização do tratamento de efluentes contendo espécies potencialmente tóxicas. As paredes celulares da biomassa contêm ácidos carboxílicos, fenóis, aminas, amidas e outros grupos que são capazes de complexar e permitir troca iônica de metais pesados.

Os bioissorventes mais estudados para remoção de Cr(VI) de soluções aquosas foram os microrganismos [47,54-58]. No entanto, a limitação desses bioissorventes para tratamento de efluentes industriais é a sua baixa biomassa disponível. Por outro lado, os resíduos agro-industriais, botânicos e marinhos estão, geralmente, disponíveis em grandes quantidades, permitindo a sua aplicação como bioissorventes no tratamento de efluentes industriais. Esses bioissorventes tais como, casca de avelã [59], cone de árvores [60], polpa de beterraba [61], casca de arroz [62,63], fibra de coco [62], serragem [62,63], casca de noz [63], turfa, musgo [63,64], os resíduos de chá e café [63], quitosana [63-65], resíduos de casca de carangueijo [66], bagaço de cinzas [64], sementes mucilaginosas [67], caules de uvas [68], cortiça [68], caroços [68], casca de árvore [63,68] e carvão [62, 69] têm sido empregados para remover Cr(VI) proveniente de soluções aquosas.

A *Araucaria angustifolia* ou *Araucaria brasiliensis* é uma árvore alta (30-52 m), do gênero Araucária [70], que ocupa grandes áreas do sul e sudeste do Brasil e leste da Argentina [70]. O florescimento da *Araucaria Angustifolia* produz um punhado de sementes, que têm o nome de pinha. Cada uma dessas apresenta um diâmetro de 10 a 25 cm e contém cerca de 700 a 1200 pinhas com cerca de 150 sementes que podem pesar até 4,7 kg [70]. As sementes são denominadas pinhão e contém uma resistente casca ao seu redor [71]. O pinhão é cozido em água e é amplamente consumido no Brasil. As cascas do pinhão consumido são normalmente descartadas no lixo e têm um tempo longo de decomposição. Outros produtos alimentares a partir de pinhão foram desenvolvidos no Brasil e geram cerca de 10 toneladas de resíduo de casca de pinhão. Devido à necessidade de encontrar novos e baratos adsorventes para remoção de metais, e também para diminuir as grandes quantidades de resíduos de pinhão, neste trabalho é apresentado o primeiro estudo de utilização de resíduos de casca de pinhão como bioissorvente com sucesso para remoção de cromo (VI) de amostras aquosas.

3.1 – Experimental

3.1.1 – PREPARAÇÃO DO BIOSSORVENTE

O bioissorvente foi adquirido no mercado local, em Porto Alegre-RS, Brasil. O peso de cada semente variou entre 7 a 9 g. As cascas do pinhão correspondem a aproximadamente 22% do peso das sementes. Cerca de 2 kg de casca de pinhão foram cozidas em um béquer de 10 L durante 2 h, e, em seguida, as sementes foram separadas da casca. A solução aquosa marrom resultante do cozimento do pinhão, contendo fenóis oxidados [71], foi descartada. Em seguida, a casca de pinhão foi novamente aquecida à ebulição, durante mais 2 horas, a fim de remover compostos fenólicos solúveis na água [71], evitando a liberação desses compostos para as soluções aquosas. Posteriormente, os resíduos de pinhão foram lavados com água destilada e secos a 70 ° C em um forno com fluxo de ar quente por 8 h.

Depois disso, os resíduos de casca de pinhão foram moídos em moinho e posteriormente peneirados. A fração de partículas de bioissorvente com diâmetro inferior a 250 µm foi utilizada nos experimentos. A densidade aparente dos resíduos de pó de pinhão foi de 0,18 g cm⁻³, apresentando uma intensa coloração marrom, que foi atribuída a polifenóis [71], que devem ser os principais compostos orgânicos responsáveis pela bioissorção de cromo (VI).

3.1.2 PROCEDIMENTO DE BIOSSORÇÃO EM BATELADA DE CROMO (VI).

Uma alíquota de 20,00 ml de soluções de concentração entre 5,00 a 1.200,0 mg L⁻¹ de Cr(VI) foi adicionada a um tubo cônico de plástico (117 milímetros de altura, 30 mm de diâmetro), contendo uma massa entre 30,0 mg e 150,0 mg de casca de pinhão. Os frascos foram tampados, colocados em um agitador horizontal e agitados de 5 minutos a 12 h. Posteriormente, os frascos foram abertos e a fase líquida foi separada por filtração, utilizando-se filtro de papel Whatman, a fim de separar o bioissorvente da solução aquosa, em seguida alíquotas de 1 a 5 ml da fase líquida foram

diluídas adequadamente em balões volumétricos de 50 ml e 100 ml com água. Finalizado o procedimento de bioissorção, as concentrações finais de cromo foram determinadas espectrofotometricamente (540 nm), utilizando DPC [72] como agente cromogênico, após multiplicar o valor encontrado da medida da concentração na solução pelo fator de diluição apropriado. A remoção de Cr(VI), a partir da solução aquosa, é determinado pela equação 1, e o da quantidade de Cr(VI) adsorvido pelo bioissorvente é dado pela equação 2.

$$\% \text{ remoção} = \left(\frac{C_o - C_f}{C_o} \right) \times 100\% \quad (1)$$

$$q = \left(\frac{C_o - C_f}{X} \right) \quad (2)$$

Onde q é a quantidade de íon metálico adsorvido pelo bioissorvente (mg g^{-1}); C_o é a concentração inicial de Cr(VI) colocada em contato com o bioissorvente (mg L^{-1}), C_f é a concentração final de Cr(VI) (mg L^{-1}) após o procedimento de bioissorção em batelada e X é a dosagem de bioissorvente (g L^{-1}).

4 - Planejamento Estatístico de Experimentos como Uma Ferramenta para Otimização das Condições de Biossorção de Cu(II) em Batelada Utilizando-se Casca de Nozes Pecã como Biossorvente.

A atividade industrial é responsável por gerar um volume muito grande de resíduos contendo diversas espécies nocivas à saúde humana [73]. Estes resíduos tóxicos necessitam ser tratados, antes de serem despejados em águas naturais. Entre as espécies de maior relevância toxicológica presentes nos resíduos industriais estão os metais pesados e ametais, que não se biodegradam pela ação do tempo, sendo bioacumulativos⁷⁴. Os procedimentos de tratamento de efluentes industriais, visando a remoção de metais pesados, são baseados em processos químicos e físicos [73-75].

Processos químicos são geralmente variados e dependem da natureza do efluente. A principal desvantagem destes procedimentos é que esses são dispendiosos, requerem uso de reagente químico adicional e podem propiciar a formação de outra espécie tóxica no efluente tratado. Os procedimentos mais empregados são:

- neutralização ácido-base, cloração, precipitação química, complexação com agentes quelantes, eletrólise e métodos oxidativos com oxigênio e ozônio [73,74].

Processos físicos, geralmente, são procedimentos mais simples, que aplicam uma determinada operação unitária, tais como [73,75]:

- Separação de fases para a remoção do material sólido (decantação, sedimentação, filtração, centrifugação, flotação) [73,76];
- Transição de uma forma física para outra (destilação, evaporação, precipitação física, cristalização) [73];
- Utilização de membranas seletivas às espécies tóxicas, para hiperfiltração, ultrafiltração, osmose reversa e diálise [77];
- Extração em fase sólida, utilizando adsorventes capazes de reter seletivamente as espécies de maior toxicidade [78]. Esse procedimento

geralmente é utilizado no final do tratamento de efluentes industriais, permitindo reduzir a um valor mínimo o nível da espécie tóxica presente.

Esse procedimento envolve desde a simples passagem de um efluente por um meio granular como areia [73] e carvão ativado [78] que retêm as espécies tóxicas por fisiossorção ou até o emprego de adsorventes sintéticos, tais como resinas poliméricas de troca iônica [79]; tecidos modificados quimicamente com grupamentos orgânicos [80,81] ou sílica gel modificada [11,82-85], os quais são capazes de reter seletivamente metais pesados por quelação, troca iônica ou microprecipitação na superfície do adsorvente [11,82-85].

Dentre todos os processos de tratamento de efluentes industriais citados acima, a extração em fase sólida é um dos procedimentos ecologicamente mais corretos, porque os íons metálicos são removidos dos efluentes por uma fase sólida. Este adsorvente pode ser regenerado posteriormente ou mantido num local seco sem contato direto com o ambiente. Entretanto, os adsorventes sintéticos (resinas poliméricas, sílicas organofuncionalizadas, tecidos modificados com grupamentos orgânicos) são de alto custo, fato que impossibilita sua aplicação em larga escala no tratamento de efluentes [79-85].

Devido ao alto custo dos adsorventes, há um crescente interesse na produção de materiais de baixo custo, com capacidade de remoção de metais pesados de águas. Estes adsorventes devem ser disponíveis em grandes quantidades (pelo menos nas proximidades do local a ser aplicado) e devem apresentar reduzido custo. Entre tais adsorventes se destacam: quitosana [64,86-87]; argilas [64]; zeólitas [64,88]; certos subprodutos industriais tais como, cinzas [64,89]; óxidos metálicos e lã de aço [64,90]; resíduos manufaturados de óleos comestíveis [91-93]; carvão vegetal e mineral [64,94]; solos contendo grandes quantidades de matéria orgânica oriundas da decomposição de vegetais [64,95,96]; resíduos agrícolas, tais como: casca de arroz [64, 96-98], casca de coco [64,98], resíduos de café e chá [99], farelo [100] e casca de trigo [101], sementes mucilaginosas [102]; como também serragem de madeira [96,103]; cascas e copas de árvore [64,96,103,104]; materiais ricos em taninos [96]; cortiça [105]; gramíneas [106]; xantato [96]; cactus [107]; musgos [108]; algas marinhas [109] e seus derivados [110].

Na região sul e sudeste do Brasil, encontram-se extensas plantações da noqueira-pecã, a qual foi introduzida pelos imigrantes norte-americanos. A

nogueira-pecã (*Carya illinoensis*) pertence à família *Juglandaceae* [111]. É uma árvore de folhas caducas, que pode atingir grande porte, superando os 40 metros de altura, 40 metros de diâmetro de copa e 20 metros de circunferência de tronco [111]. A longevidade pode superar os 200 anos [111].

A casca da noz pecã é um subproduto de cor avermelhado intenso, de difícil degradação. Dessa forma, torna-se necessário encontrar uma utilidade para esse subproduto, que nesse trabalho foi explorado como bioissorvente para remoção de íons Cu(II) de soluções aquosas, utilizando-se planejamento estatístico de experimentos, para otimizar as condições de bioissorção em batelada.

4.1 Experimental

4.1.1 PREPARAÇÃO DO BIOSSORVENTE

Nozes pecã (*Carya illinoensis*) foram adquiridas em mercado local em Porto Alegre-RS. O peso de cada semente variou entre 7 a 11 g. A casca corresponde a aproximadamente 49% de toda a castanha. Aproximadamente 500 g de casca de noz pecã foram lavadas com água destilada e fervida com 6,0 L de água por um período de 2 h para se eliminar a maior parte dos compostos solúveis em água. Posteriormente as cascas foram secas a 70°C por 8 h, numa estufa provida de ar quente. Após, a casca de noz foi moída num moinho de disco e subsequentemente peneirada. A fração com diâmetro de partículas inferior a 250 µm foi utilizada no procedimento de bioissorção. A densidade aparente da casca de noz pecã encontrada foi de 1,30 g cm⁻³.

4.1.2 REAGENTES E SOLUÇÕES

Água deionizada foi empregada em todo o trabalho.

A solução estoque de 5000,0 mg L⁻¹ Cu²⁺ foi preparada dissolvendo-se 9,8228 g of CuSO₄.5H₂O (Vetec, Rio de Janeiro-RJ) em água e completando o volume final a 500,0 mL. Soluções de trabalho de Cu²⁺ com concentrações

variando de 5,00 a 1000,0 mg L⁻¹ foram preparadas por diluição serial da solução estoque. O ajuste de pH das soluções foi feito com alíquotas de soluções de HNO₃ e NaOH 1,0 mol L⁻¹, utilizando um pHmetro portátil handylab 1 Schott (Mainz, Alemanha) provido de eletrodo combinado de vidro, modelo Blue-Line 23.

A solução do agente cromogênico 0,15% m/v de dietilditiocarbamato de sódio (DDTC; Merck, Darmstadt-Alemanha) foi preparada diariamente dissolvendo-se 0,375 g de DDTC em 5 mL de etanol, após esta solução foi misturada com 150 mL de água quente (≈70-80°C) e então filtrada e completado o seu volume com água deionizada a 250,0 mL em balão volumétrico.

Para o preparo da solução tampão foi empregado tetraborato de sódio decaidratado (Vetec, Rio de Janeiro-RJ, Brasil).

4.1.3 PROCEDIMENTO DE BIOSSORÇÃO EM BATELADA DE CU²⁺.

Alíquotas de 20,00 mL de solução de Cu²⁺ com concentrações variando-se entre 5,00 a 1000,0 mg L⁻¹ foram adicionadas em frascos plásticos cônicos (117 mm altura, 30 mm diâmetro) contendo 30,0 – 50,0 mg de casca de noz pecã moída. Os frascos foram tampados e colocados num agitador horizontal e agitados por 1 a 4 h. Após, os frascos foram destampados e a fase líquida foi separada por filtração utilizando filtro de papel Whatman. Quando necessário, alíquotas de 1-10 mL das soluções do sobrenadante foram propriamente diluídas entre 50-100 mL em balões volumétricos utilizando-se água. As soluções finais de Cu²⁺ foram determinadas espectrofotometricamente utilizando DDTC a 460 nm [84], num sistema de análise em fluxo, após multiplicar o valor da concentração da solução medida, depois do procedimento de biossorção, pelo fator de diluição apropriado.

A quantidade de Cu²⁺ biossorvida pela casca de noz pecã é dada pela equação abaixo.

$$1) \quad q = \frac{(C_o - C_f) \cdot V}{m}$$

Na qual, q é a quantidade bioissorvida do íon metálico pelo bioissorvente (mg g^{-1}); C_o é a concentração inicial de Cu^{2+} colocada em contato com o bioissorvente (mg L^{-1}), C_f é a concentração final de Cu^{2+} (mg L^{-1}) após o procedimento de bioissorção em batelada, m é a massa do bioissorvente (g) e V é o volume da solução do íon metálico colocada em contato com o bioissorvente (L).

4.1.4 DETERMINAÇÃO DE Cu^{2+}

Para a determinação de Cu^{2+} nas amostras, um injetor-comutador proporcional feito em acrílico contendo uma secção 2:3:2 para adaptação da alça de amostragem e uma secção 0:1:2 para introdução do agente cromogênico intermitentemente foi empregado [72] durante todo o trabalho. A parte central do injetor é móvel e suas laterais são fixas [72]. Também foram utilizadas, duas bombas peristálticas (Milan, Colombo-PR), linhas de transmissão de 0,8 mm de diâmetro interno, conectores em acrílico, célula em fluxo (150 μL) e um espectrofotômetro (Femto 600S, São Paulo-SP), os quais estão apresentados na Figura 1.

Na posição de amostragem (Figura 1A), a solução da amostra S (5-30 mg L^{-1} Cu^{2+} ; 4,0 mL min^{-1}) preenche a alça de amostragem L_s (125 μL) e seu excesso é direcionado ao descarte da solução da amostra (W_s); o reagente cromogênico (0,15% m/v DDTc; 2,5 mL min^{-1}) R_1 está sendo bombeado para seu frasco de regeneração Reg_1 . Num segundo canal, a solução transportadora C_s (0,1 mol L^{-1} HNO_3 ; 2,6 mL min^{-1}) está sendo bombeada para o sistema, onde no ponto de confluência Y essa se mistura com a solução tampão B_2 (0,5 mol L^{-1} tampão acetato, pH 5,5; a 2,6 mL min^{-1}) e a mistura ocorre na bobina de reação C_2 (100 μL), então a zona da amostra tamponada alcança o ponto de confluência Z e subsequentemente esta zona alcança a bobina de mistura C_3 (200 μL) e então a zona da amostra passa pela célula em fluxo (150 μL) do espectrofotômetro (460 nm) produzindo a linha de

base, sendo subsequentemente direcionada ao descarte (W). Na posição de injeção (Figura 1B), a alça de amostragem Ls é inserida no fluxo da solução transportadora Cs que direciona a zona da amostra para o ponto de confluência Y onde essa se mistura com a solução tampão B₂ passando ambas pela bobina misturadora C₂, então a zona da amostra tamponada alcança o ponto de confluência Z onde se mistura com o reagente cromogênico e então a zona da reação é misturada na bobina C₃ (200 µL) formando o complexo Cu(DDTC)₂ [84]. Esta zona é subsequentemente direcionada a célula em fluxo do espectrofotômetro (460 nm), produzindo um sinal transiente, e finalmente é direcionada ao descarte (W).

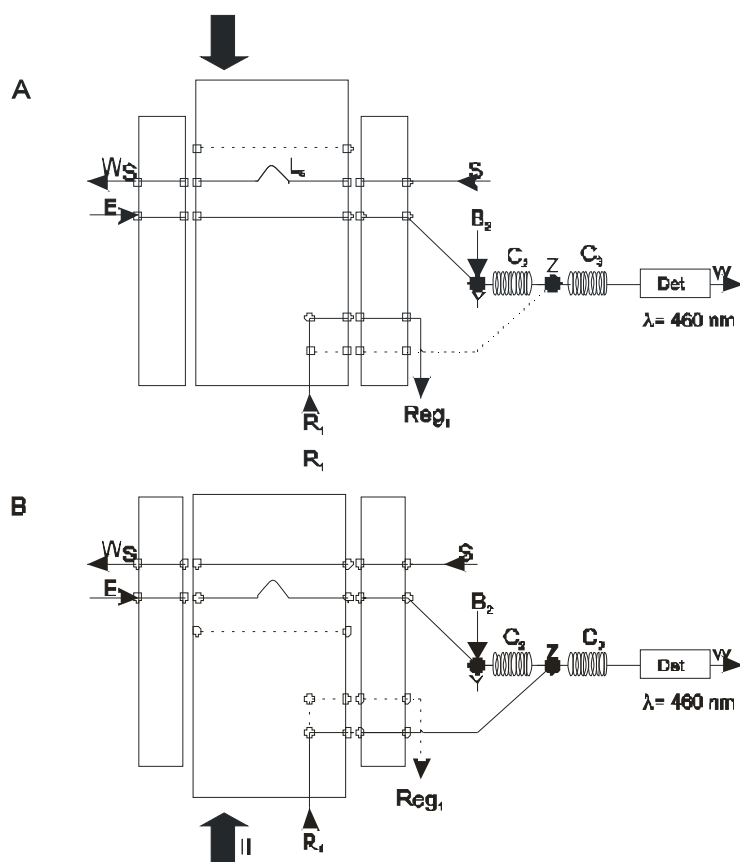


Fig 1 (A e B) Diagrama de fluxo para determinação de Cu^{2+} usando DDTC. S-solução da amostra; Ls - alça de amostragem (375 μL); Ws- descarte da solução da amostra; E - solução transportadora - 0,5 mol L^{-1} HNO_3 ; R₁ - 0,15% m/v DDTC, Reg₁ - frasco de regeneração do agente cromogênico, B₂ – solução tampão borato pH 9,0, C₂ e C₃ bobinas de reação com 100 e 200 μL , respectivamente; Y e Z – pontos de confluência; Det - célula em fluxo colocada no espectrofotômetro; W – descarte.

5- Conclusões

5.1- Primeiro Trabalho

Um sistema simples de pré-concentração em fluxo para a determinação do Cu^{2+} utilizando DDTC como agente cromogênico e AMPSG como um adsorvente foi usado com sucesso para a determinação do analito em amostras naturais e de água salobra. Um planejamento fatorial completo 2^5 para a otimização das condições analíticas para pré-concentração de Cu^{2+} mostrou que só o tempo de pré-concentração e a vazão do analito e a respectiva interação entre esses fatores são significativas. Utilizando as melhores condições, o fator de pré-concentração para cobre obtido com o AMPSG foi de 77, utilizando um período de pré-concentração de apenas 3 minutos, além disso, um limite de detecção de $3,0 \text{ ng mL}^{-1}$ também foi atingido nesse trabalho.

5.2- Segundo Trabalho

Para se obter as melhores condições de adsorção em batelada de Cr(VI) utilizando casca de pinhão como biossorvente, um planejamento fatorial completo 2^4 foi empregado para fazer uma triagem dos fatores que teriam influência nessa otimização. Essa otimização estatística de experimentos mostrou que as melhores condições iniciais seriam: pH 2,0, concentração inicial de Cr(VI) (Co) pelo menos em $600,0 \text{ mg L}^{-1}$, dosagem do biossorvente (X) de pelo menos $2,50 \text{ g L}^{-1}$ e tempo de contato (t) de pelo menos 8,0 h. Baseado nesses resultados, uma análise de superfície de resposta do tipo Box-Behnken foi realizada, investigando-se além dos limites obtidos na triagem prévia, obtida pelo planejamento fatorial. As melhores condições obtidas foram: pH 2,0, Co $1200,0 \text{ mg L}^{-1}$, X $1,50 \text{ g L}^{-1}$ e $t = 8 \text{ h}$. Para verificar que ânions tais como: Cl^- , NO_3^- , PO_4^{3-} poderiam interferir no processo de adsorção de Cr(VI) utilizando casca de pinhão, uma nova análise de superfície de resposta de Box-Behnken foi realizada, usando as melhores condições para a adsorção de Cr(VI) pela casca de pinhão. Os resultados mostraram que não existe

interferência de nenhum desses íons na bioissorção.

Para se regenerar o Cr(VI) carregado nas cascas de pinhão, experimentos de dessorção foram inicialmente realizados utilizando-se soluções de NaCl (pH 8,0) como eluente. Esse meio foi impróprio para a remoção de Cr(VI) do bioissorvente carregado com o íon metálico. Uma nova tentativa foi realizada com solução de $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{NaOH}$, a qual é um meio conhecido para oxidar Cr^{3+} a CrO_4^{2-} . Esse experimento confirmou que o Cr(VI) foi reduzido a Cr(III) pelo bioissorvente.

5.3- Terceiro Trabalho

Casca de noz pecã foi utilizada como bioissorvente para a remoção de íons Cu(II) de soluções aquosas. A otimização das condições de bioissorção em batelada foi realizada utilizando-se dois planejamentos estatísticos de experimentos, o planejamento fatorial completo 2^4 com dois pontos centrais (n= 18 experimentos) e para continuar a otimização do sistema foi empregado uma análise de superfície de resposta empregando planejamento com composto central e com dois fatores (n=13 experimentos). Toda a otimização do sistema foi realizada com apenas 31 experimentos.

Após a otimização das condições de bioissorção em batelada, foi obtida a isoterma de bioissorção de Cu(II) em casca de pinhão, resultando numa quantidade máxima adsorvida igual a 20.0 mg g^{-1} do íon metálico.

6 – Referências

- [1] R. F. Teófilo, M. M. C. Ferreira. *Quim. Nova*, 29, 338, (2006).
- [2] E.C. Lima, J.L. Brasil, J.C.P. Vaghetti. *Tal.*, 60, 103 (2003).
- [3] E.C. Lima, J.L. Brasil, A.H.D.P. dos Santos. *Microchim. Acta*, 146, 22 (2004).
- [4] J.L. Brasil, E.C. Lima, R.C. Veses, M.M. Tisott. *At. Spectrom.*, 25, 94 (2004).
- [5] N.G. Becka, R.P. Franks, K.W. Bruland. *Anal. Chim. Acta*, 455, 11 (2002).
- [6] K. Oshita, J. Xu, Y.H. Gao, K.H. Lee, M. Oshima, S. Motomizu. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 76, 1555 (2003).
- [7] M.E. Mahmoud, M.S.M. Al-Saadi. *Anal. Chim. Acta*, 450, 239 (2001).
- [8] E.M. Soliman, M.E. Mahmoud, S.A. Ahmed. *Tal.*, 54, 243 (2001).
- [9] K.S. Abou-El-Sherbini, I.M.M. Kenawy, M.A. Hamed, R.M. Issa, R. Elmorsi. *Tal.*, 58, 289 (2002).
- [10] M.M. Osman, S.A. Kholeif, N.A. Abou Al-Maaty, M.E. Mahmoud. *Microchim. Acta*, 143, 25 (2003).
- [11] J.C.P. Vaghetti, M. Zat, K.R.S. Bentes, L.S. Ferreira, E.V. Benvenuti, E.C. Lima. *J. Anal. At. Spectrom.*, 18, 376 (2003).
- [12] D. Prabhakaran, M.S. Subramanian. *Tal.*, 59, 1227 (2003).
- [13] P.K. Jal, S. Patel, B.K. Mishra. *Tal.*, 62, 1005 (2004).
- [14] C.E. Harland. *Ion Exchange: Theory and Practice*, 2^a Ed. 1–285, Royal Soc. of Chem., Cambridge, UK (1994).
- [15] H. Bergamin-Filho, B.F. Reis, A.O. Jacintho, E.A.G. Zagatto. *Anal. Chim. Acta*, 117, 81 (1980).
- [16] M.M. Santos-Filha, B.F. Reis, H. Bergamin-Filho, N. Baccan. *Anal. Chim. Acta*, 261, 339 (1992).
- [17] J. Ruzicka, E.H. Hansen. *Flow Injection Analysis*, 2^a Ed., Wiley, New York (1988).
- [18] Y. Baba, H. Noma, R. Nakayama, Y. Matsushita. *Anal. Sci.*, 18, 359 (2002).
- [19] C. Airoidi, R.F. Farias. *Quim. Nova*, 23, 496 (2000).
- [20] M.C. Yebra-Biurrun, A. Bermejo-Barrera, M.P. Bermejo-Barrera, M.C. Barciela-Alonso. *Anal. Chim. Acta*, 303, 341 (1995).
- [21] M.C. Yebra, M.F. Enriquez, A. Garcia, A. Moreno-Cid. *Fres. J. Anal.*

Chem., 370, 64 (2001).

[22] P. Liu, Z. Shu, X. Wu, Q. Pu. *J. Anal. At. Spectrom.*, 17, 125 (2002).

[23] S. Zhang, Q. Pu, P. Liu, Q. Sun, Z. Su. *Anal. Chim. Acta*, 452, 223 (2002).

[24] Q. Pu, P. Liu, Q. Sun, Z. Su. *Microchim. Acta*, 143, 45 (2003).

[25] E.L. da Silva, A.O. Martins, A. Valentini, V.T. de Fávare, E. Carasek. *Tal.*, 64, 181 (2004).

[26] P. Liu, Q. Pu, Q. Su, Z. Su. *Anal. Sci.*, 19, 409 (2003).

[27] M.C. Yebra, N. Carro, M.F. Enriquez, A. Moreno-Cid, A. Garcia. *Analyst*, 2001, 933 (2001).

[28] A.N. Anthemidis, G.A. Zachariadis, J.A. Stratis. *Tal.*, 58, 831 (2002).

[29] A. Ali, Y. Ye, G. Xu, X. Yin. *Fres. J. Anal. Chem.*, 365, 642 (1999).

[30] S.L.C. Ferreira, V.A. Lemos, B.C. Moreira, A.C.S. Costa, R.E. Santelli. *Anal. Chim. Acta*, 403, 259 (2000).

[31] V.A. Lemos, P.X. Baliza, R.T. Yamaki, M.E. Rocha, A.P.O. Alves. *Tal.*, 61, 675 (2003).

[32] T.P. Rao, J.M. Gladis. *Anal. Sci.*, 18, 517 (2002).

[33] S. Ceruti, J.A. Salonia, S.L.C. Ferreira, R.A. Olsina, L.D. Martinez. *Tal.*, 63, 1077 (2004).

[34] M. Zougagh, P.C. Rudner, A.G. de Torres, J.M.C. Pavón. *Anal. Bioanal. Chem.*, 378, 423 (2004).

[35] E.N.V.M. Carilho, J.A. No´ brega, T.R. Gilbert. *Tal.*, 60, 1131 (2003).

[36] L. Yang, B. Hu, Z. Jiang, Huilin Pan. *Microchim. Acta*, 144, 227 (2004).

[37] C. Pons, M. Miro, E. Becerra, J.M. Estela, V. Cerda. *Tal.*, 62, 887 (2004).

[38] H. Bagheri, A. Gholami, A. Najafi. *Anal. Chim. Acta*, 424, 233 (2000).

[39] S.V.M. Moraes, J.L. Brasil, C.D. Milcharek, L.C. Martins, M.T. Laranjo, M.R. Gallas, E.V. Benvenuti, E.C. Lima. *Spectrochi. Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 62, 398 (2005).

[40] B. de Barros Neto, I.S. Scarminio, R.E. Bruns. *Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*, Editora da UNICAMP, Campinas, Brazil (2001).

[41] S. Cerutti, S.L.C. Ferreira, J.A. Gasquez, R.A. Olsina, L.D. Martinez. *J. Hazard. Materials*, 112, 279 (2004).

[42] J.A.A. Sales, F.P. Faria, A.G.S. Prado, C. Airoidi. *Polyhedron*, 23, 719 (2004).

- [43] Zagatto, E.A.G., Jacintho, A.O., Reis, B.F., Krug, F.J., Bergamin-Filho, H., Pessenda, L.C.R., Mortatti, J., Giné, M.F. Manual de Análises de Plantas e Águas empregando sistemas de injeção em fluxo. Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba-SP, p. 45 (1981).
- [44] H. Cesur. J. Trace Microprobe Tech., 21, 627 (2003).
- [45] E.A.G. Zagatto, A.O. Jacintho, J. Mortati, H. Bergamin-Filho. Anal. Chim. Acta, 120, 399 (1980).
- [46] Toxicological profile for Chromium, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, (2000).
- [47] Loukidou M.X., Karapantsios T.D., Zouboulis A.I., Matis, K.A. Industrial & Engineering Chemical Research, , 43, 1748 (2004).
- [48] Brito, N.N., Paterniani, J.E.S., Zamora, P.P., Oliveira, A.L., De Battistini A., Pelegrini, R.T. IV Fórum de Estudos Contábeis, Rio Claro-SP, 1, (2004).
- [49] Harland, C.E., Ion Exchange Theory and Practice, 2^a edition. Royal Society of Chemistry, Cambridge- United Kingdom, 285, (1994).
- [50] Soldatov, V.S., Shunkevich A.A., Elison, I.S., Iraushek H. Desalination, 124, 181, (1999).
- [51] Corvalan, S. M., Ortiz, I., Eliceche, A. M. Comp. and Chem. Eng., 28, 103, (2004)
- [52] Cooney, D.O., Adsorption design for wastewater treatment. Lewis Publishers, Boca Raton, 189, (1999).
- [53] Babel, S., Kurniawan, T.A., Cr(VI) removal from synthetic wastewater using coconut shell charcoal and commercial activated carbon modified with oxidizing agents and/or chitosan, 54, 951, (2004)
- [54] Tunali, S., Kiran, I., Akar, T. Minerals Eng., 18, 681, (2005).
- [55] Ozdemir, G., Baysal, S.H. Microbiology Biotech., 64, 599,(2004).
- [56] Carmona, M.E.R., da Silva, M.A.P., Leite, S.G.F. Process Biochemistry, 40, 779, (2005).
- [57] Bingol, A., Ucun, H., Bayhan, Y.K., Karagunduz, A., Cakici, A., Keskinler, B. Bioresource Tech., , 94, 245, (2004).
- [58] Sahim, Y., Öztürk, A. Process Bioch., 40, 1895, (2005).
- [59] Cimino, G., Passerini, A., Toscano, G. Water Research, , 34, 2955, (2000).
- [60] Ucun, H. Bayhan, Y.K., Kaya, Y., Cakici, A., Algur, O.F. Bioresource Tech.,

85, 155, (2002).

[61] Altundogan, H.S. *Process Bioch.*, 40, 1443, (2005).

[62] Sumathi, K.M.S, Mahimairaja, S., Naidu, R. *Bioresorce Tech.*, 96, 309, (2005).

[63] Bailey, S.E., Olin, T.J., Bricka, M., Adrian, D., *Wat. Research*, 33, 2469 (1999).

[64] Babel, S., Kurniawan, T.A. *J. of Hazardous Mat.*, 97, 219 (2003).

[65] Boddu V.M., Abburi, K., Talbott J.L., Smith, E.D. *Envir. Science and Tech.*, 37, 4449, (2003).

[66] Niu, H., Volesky, B., *Hydromet.*, 71, 209, (2003).

[67] Melo, J.S., D'Souza, S.F. *Bioresorce Tech.*, 92, 151 (2004).

[68] Fiol, N., Villaescusa I., Martínez, M., Miralles, N., Poch, J., Serarols, J. *Env. Chem. Letters*, 1, 135, (2003).

[69] Babel, S., Kurniawan, T.A. *Chemosp.*, 54, 951, (2004).

[70] Mattos, J. R. *O Pinheiro Brasileiro. Globo, Lages*, 2^a edition, 1, 660 (1994).

[71] Cordenunsi, B.R., de Menezes, E.W., Genovese, M.I., Colli, C., de Souza, A.G., Lajolo. *J. of Agric. and Food Chem.*, 52, 3412, (2004).

[72] Zagatto, E. A. G., Oliveira, C. C., C. H., *Quim. Nova*, 22, 143, (1999).

[73] Brito, N. N.; Paterniani, J. E. S.; Zamora, P. P.; Oliveira, A. L.; De Battistini, A.; Pelegrini, R. T.; *IV Fórum de Estudos Contábeis, Rio Claro, Brasil* (2004).

[74] Yu, M. H.; *Environmental Toxicology: Biological and Health Effects of Pollutants*, 2^a edition, CRC Press: Boca Raton (2005).

[75] Manaham, S. E.; *Environmental Chemistry*, 7^a edition, CRC Press: Boca Raton (2000).

[76] Matis, K. A.; Zouboulis, A. I.; Lazaridis, N. K.; *Water, Air, Soil Pollut.*, 3, 143 (2003).

[77] Molinari, R.; Argurio, P.; Poerio, T.; *Desalin.*, 162, 217, (2004)

[78] Cooney, D. O.; *Adsorption design for wastewater treatment*, Lewis Publishers: Boca Raton, (1999).

[79] Harland, C. E.; *Ion Exchange Theory and Practice*, 2^a edition, Royal Society of Chemistry: Cambrige, (1994).

[80] Soldatov, V. S.; Shunkevich, A. A.; Elison, I. S.; Iraushek, H.; *Desalin.* 124, 181, (1999).

[81] Lacour, S.; Serpaud, B.; Bollinger, J. C.; *Water Res.*, 38, 4045, (2004).

- [82] Arenas, L. T.; Vagheti, J. C. P.; Moro, C. C.; Lima, E. C.; Benvenuti, E. V.; Costa, T. M. H.; *Mater. Lett.*, 58, 895, (2004).
- [83] Moraes, S. V. M.; Tisott, M. M.; Milcharek, C. D.; Brasil, J. L.; Costa, T. M. H.; Gallas, M. R.; Benvenuti, E. V.; Lima, E. C.; *Anal. Sci.*, 21, 573, (2005).
- [84] Moraes, S. V. M.; Brasil, J. L.; Milcharek, C. D.; Martins, L. C.; Laranjo, M. T.; Gallas, M. R.; Benvenuti, E. V.; Lima, E. C.; *Spectrochim. Acta, Part A*, 62, 398, (2005).
- [85] Pavan, F. A.; Costa, T. M. H.; Benvenuti, E. V.; Jacques, R. A.; Cordova, M. C.; *Quim. Nova*, 27, 730, (2004).
- [86] Arrascue, M. L.; Garcia, H. M.; Horna, O.; Guilbal, E.; *Hydromet.*, 71, 191, (2003).
- [87] Moret, A.; Rubio, J.; *Miner. Eng.*, 16, 715, (2003).
- [88] Pergher, S. B. C.; Oliveira, L. C. A.; Smaniotto, A.; Petkowicz, D. I.; *Quim. Nova*, 28, 751, (2005).
- [89] Zhang, F. S.; Itoh, H.; *J. Hazard. Mater.*, 101, 323, (2003).
- [90] Wang, Y. H.; Lin, S. H.; Juang, R. S.; *J. Hazard. Mater.*, 102, 291, (2003).
- [91] Pagnanelli, F.; Mainelli, S.; Végliò, F.; Toro, L.; *Chem. Eng. Sci.*, 58, 4709, (2003).
- [92] Veglió, F.; Beolchini, F.; Prisciandaro, M.; *Water Res.*, 37, 4895 (2003).
- [93] Capasso, R.; Pigna, M.; De Martino, A.; Pucci, M.; Sannino, F.; Violante, A.; *Environ. Sci. Technol.*, 38, 5170, (2004).
- [94] Kannan, N.; Rajakumar, A.; *Toxicol. Environ. Chem.*, 84, 7, (2001).
- [95] Ma, W.; Tobin, J. M.; *Biochem. Eng. J.*, 18, 33, (2004).
- [96] Bailey, S. E.; Olin, T. J.; Bricka, M.; Adrian, D.; *Water Res.*, 33, 2469 (1999).
- [97] Daifullah, A. A. M.; Girgis, B. S.; Gad, H. M. H.; *Mater. Lett.*, 57, 1723, (2003).
- [98] Sumathi, K. M. S.; Mahimairaja, S.; Naidu, R.; *Bioresour. Technol.*, 96, 309, (2005).
- [99] Minamisawa, M.; Minamisawa, H.; Yoshida, S.; Takai, N.; *J. Agric. Food Chem.*, 52, 5606, (2004).
- [100] Farajzadeh, M. A.; Monji, A. B.; *Sep. Purif. Technol.*, 38, 197, (2004).
- [101] Basci, N.; Kocadagistan, E.; Kocadagistan, B.; *Desalin.*, 164, 135, (2004).
- [102] Melo, J.S.; D'Souza, S.F.; *Bioresour. Technol.*, 92, 151 (2004).

- [103] Sciban, M.; Klasnja, M.; Holz Roh Werkst, 62, 69 (2004).
- [104] Nuhogly, Y.; Oguz, E.; Process Biochem., 38, 1627, (2003).
- [105] Chubar, N.; Carvalho, J. R.; Correia, J. N.; Colloids Surf., A, 230, 57, (2004).
- [106] Saeed, A.; Iqbal, M.; Water Res., 37, 3472, (2004).
- [107] Dávila-Jimenez, M. M.; Elizalde-González, M. P.; Geyer, W.; Mattush, J.; Wennrich, R.; Colloids Surf., A, 219, 243, (2003).
- [108] Martins, R. J.; Pardo, R.; Boaventura, R. A. R.; Water Res., 38, 693, (2004).
- [109] Cossich, E. S.; Da Silva, E. A.; Tavares, C. R. G.; Cardozo-Filho, L.; Ravagnani, T. M. K.; Adsorption, 10, 129, (2004).
- [110] Ibáñez, J. P.; Umetsu, Y.; Hydrometallurgy, 72, 327, (2004).
- [111] <http://www.divinut.com.br/nogueira.htm>, acessada em Janeiro 2006.

Anexos

É importante salientar, que estes trabalhos foram publicados em revistas indexadas, e que a seguir seguem os três artigos na sua versão original, incluindo os resultados e discussões. O primeiro artigo intitulado, “*Planejamento Fatorial para a Otimização do Procedimento de Pré-concentração por Injeção de Fluxo para Determinação de Cobre (II) em Águas Naturais Utilizando 2-Aminometilpiridina Enxertada em Sílica Gel como Adsorvente Empregando Detecção Espectrofotométrica*”, visa a pré-concentração de cobre em sílica gel enxertada com Aminometilpiridina e posteriormente a melhoria do sinal analítico.

O segundo artigo e o terceiro artigo intitulados, “*Planejamento Fatorial de Experimentos como uma Ferramenta para Otimizar as Condições de Bioissorção de Cr(VI) em Casca de Pinhão*” e “*Planejamento Estatístico de Experimentos como Uma Ferramenta para Otimização das Condições de Bioissorção de Cu(II) em Batelada Utilizando-se Casca de Nozes Pecã como Bioissorvente*”, enfocam a utilização de adsorventes de baixo custo, oriundos da biomassa, ou seja bioissorventes, que são a casca de pinhão e a de noz pecã, ambas utilizadas para bioissorção de cromo e de cobre respectivamente.

Factorial design for optimization of flow-injection preconcentration procedure for copper(II) determination in natural waters, using 2-aminomethylpyridine grafted silica gel as adsorbent and spectrophotometric detection

JORGE L. BRASIL[†], LUCAS C. MARTINS[†], RICARDO R. EV[†],
JAIRTON DUPONT[†], SÍVIO L. P. DIAS[†], JOSÉ A. A. SALES[‡],
CLÁUDIO AIROLDI[‡] and ÉDER C. LIMA^{*†}

[†]Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
Caixa Postal 15003, CEP 91501-970 Porto Alegre-RS, Brazil

[‡]Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6154,
CEP 13084-971 Campinas-SP, Brazil

(Received 17 December 2004; in final form 8 March 2005)

The 2-aminomethylpyridine anchored silica gel (AMPSG) was successfully used as a sorbent in a simple spectrophotometric flow system for Cu²⁺ preconcentration in natural water samples, using sodium diethyldithiocarbamate as chromogenic agent (460 nm). The system was optimized using a full factorial design 2⁵ to determine better analytical conditions to determine copper in the natural water samples such as those from river, tap, stream, spring, well, waste, synthetic brackish water and a water reference material (NIST-1640). The better conditions used were: 180 s loading; 30 s elution; 30 s regeneration of the column; loading flow rate 6.6 mL min⁻¹; buffer solution for the preconcentration and regeneration of the column-acetate buffer pH 5.75; elution flow rate 1.6 mL min⁻¹; eluent composition 0.20 mol L⁻¹ HNO₃. Under these conditions, the preconcentration factor obtained was 77, and the detection limit achieved was 3.0 ng mL⁻¹. The recovery of spiked water samples ranged from 95.2 to 104.7%.

Keywords: Copper preconcentration; 2-Aminomethylpyridine grafted silica gel; Flow injection; Spectrophotometry; Factorial design; Water samples

1. Introduction

The determination of potentially toxic elements in environmental samples has been a common concern everywhere. Usually, these element levels found in environmental samples are very low, requiring the use of high-detection-power techniques such as graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) [1–4] and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [5, 6]. In underdeveloped countries, these analytical techniques are not extensively used due to their high implementation

*Corresponding author. Fax: +55-51-3316-7304. Email: ederlima@iq.ufrgs.br

and maintenance costs [1–6]. An interesting alternative for the determination of low levels of potentially toxic elements in environmental samples is the use of a preconcentration procedure. Among several kinds of preconcentration methods, solid-phase extraction using chelating sorbents [7–13] and also ion exchangers [14–16] is the most valuable method, since it does not require the use of toxic organic solvents, which generates large volumes of waste that need to be treated subsequently, besides being a time-consuming procedure that leads to a decrease in sampling throughput [15–17].

Modified silica with different organic groups is one of the most successful sorbents used in the analytical laboratories, because the silica supports do not swell or shrink like polymeric resins [14] and unmodified natural occurrence materials [18]; this means that the modified silica sorbent can be used for several cycles of preconcentration, because retention processes such as adsorption, chelation, and ion exchange are reversible [13, 19]. The modified silica is useful to employ in aqueous and organic solvents media [13, 19] due to the good thermal stability [13, 19] and appropriate accessibility of ions to the attached chelating groups, which allows its high preconcentration factors [13, 19].

Flow-injection preconcentration systems using minicolumns packed with a suitable sorbent for the preconcentration of several analytes in many different kinds of sample have been used successfully [15–17]. These procedures present several advantages over conventional column-preconcentration procedures. For example, the total time of preconcentration can be reduced from several hours to carry out just one cycle [15, 16] to just a few minutes, thus increasing the sampling throughput remarkably; there is a higher repeatability of measurements acquired with flow systems [17]; the contamination risk is reduced because there are fewer manual operations [15–17]; and there is a lower consumption of samples and reagents [15–17]. Flow-injection preconcentration systems present several advantages when coupled mainly with flame atomic absorption spectrometry (FAAS) [20–32] and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) [32–37]. On the other hand, the applications in which flow-injection preconcentration systems are coupled to spectrophotometry for the determination of metallic ions are rare [38, 39]. Also, the use of organofunctionalized silica gel used as a sorbent in flow systems for Cu^{2+} determination has also rarely been used [25, 39], so there is a need to explore these more extensively.

The performance of a flow-preconcentration system requires the optimization of several variables. Conventionally in the optimization of the system, each parameter is varied at the time, and the others are fixed. By using the conventional univariate mode, it is not possible to evaluate the interactions among different variables [40], which limit the overall optimization of the system [33, 40, 41]. In order to overcome these difficulties, a factorial design can be used, where all the variables are changed simultaneously [40], and the maximum optimization of the system can be achieved with a minimum number of experiments [33, 40, 41].

In this investigation, the sorbent 2-aminomethylpyridine grafted silica gel (AMPSG) was successfully used for the preconcentration of copper (II) in natural water samples. A flow system for online preconcentration of the analyte was used with a spectrophotometric detection at 460 nm, by using sodium diethyldithiocarbamate (DDTC) as a chromogenic agent. The system was optimized, employing a full factorial design 2^5 (32 experiments) in order to find the best analytical conditions for copper preconcentration and reducing the total number of the experiments to attain this goal.

2. Experimental

2.1 Instruments

A 600 S Femto spectrophotometer (São Paulo-SP, Brazil) provided with a 150 μL flow cell (Femto) and a serial port RS232C connected to an AMD K6II 350 MHz personal computer for data acquisition were used throughout for the analytical measurements. Two four-channel Milam bp-200 peristaltic pumps (Colombo-PR, Brazil) provided with Tygon[®] and silicone tubes of different diameters were used for the propulsion of solutions in the flow system. For the pH measurements, a handylab 1 Schott hand-held pH/mV meter (Mainz, Germany) was used with a combined glass electrode model Blue-Line 23 pH.

2.2 Reagents, solutions, and samples

Double-distilled water was used throughout. Solutions containing 0.10–1.0 mol L^{-1} of nitric acid (Merck, Rio de Janeiro-RJ, Brazil) were used as eluent. A 1.00 g L^{-1} copper (II) stock solution was prepared, dissolving 0.5000 g of metallic copper (Merck, Rio de Janeiro-RJ, Brazil) in 10 mL of 7.0 mol L^{-1} of nitric acid; this solution was quantitatively transferred to a 500.0 mL calibrated flask, and the volume was made up to the mark with water. The calibration solutions within 50–300 ng mL^{-1} (preconcentration) and 2000–8000 ng mL^{-1} (without preconcentration) of the Cu^{2+} range were prepared by suitable serial dilution of the stock solution with water and adjusting the final acidity to pH 1.0 with HNO_3 .

Sodium diethyldithiocarbamate (DDTC; Merck, Darmstadt-Germany) 8.7 $\times 10^{-3}$ mol L^{-1} solution was prepared daily by dissolving 0.375 g of DDTC in 5 mL of ethanol; afterwards, this solution was mixed with 150 mL of hot water (70–80°C), filtered into a 250.0 mL volumetric flask, and the volume made up to the mark with water.

For the buffer preparations, glacial acetic acid (Merck, Rio de Janeiro, Brazil), sodium acetate (Merck), ammonium acetate (Merck), boric acid (Merck), sodium tetraborate decahydrate (Vetec), potassium hydroxide (Reagen), and nitric acid (Merck) were used.

For the interference studies and synthetic water samples, the following salts of elements were used: NaCl (Merck), KCl (Merck), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Vetec), $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ (Reagen), $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Vetec), $\text{FeSO}_4 \cdot \text{NH}_4\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Reagen), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Nuclear), and $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Reagen).

The 2-aminomethylpyridine anchored silica gel (AMPSG) sorbent was prepared as reported elsewhere [42], obtaining a material with a specific surface area of $121.4 \pm 8.6 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ and a coverage of silica surface of $0.76 \pm 0.04 \text{ mmol}$ of 2-aminomethylpyridine groups per gram of sorbent.

The ordinary water samples (river, stream, spring, tap, waste, well) were filtered with Whatman paper, and the pH was adjusted to 1.0 with HNO_3 . The samples were then analysed using the procedure of preconcentration. The reference material, Trace Elements in Natural Water (NIST-1640), from the National Institute of Standards and Technology (NIST, Gaithersburg, USA) was used to achieve the required accuracy of the method.

2.3 Flow system

For Cu^{2+} determination in the water samples, a manually operated manifold made of a Perspex proportional injector-commutator [43] containing a 2:3:2 section for adapting the sampling loop and/or preconcentration column and a 0:1:2 section for delivering the chromogenic agent intermittently were used. The central part of the injector-commutator was movable and the edge portions were fixed. The PVC mini-column was placed in the central position of the injector-commutator and was used for the analyte preconcentration. Also, two peristaltic pumps, 0.8 mm ID polyethylene transmission lines, Perspex connectors, flow cell and spectrophotometer were mounted as depicted in figure 1. In the preconcentration position (position I, figure 1A), the

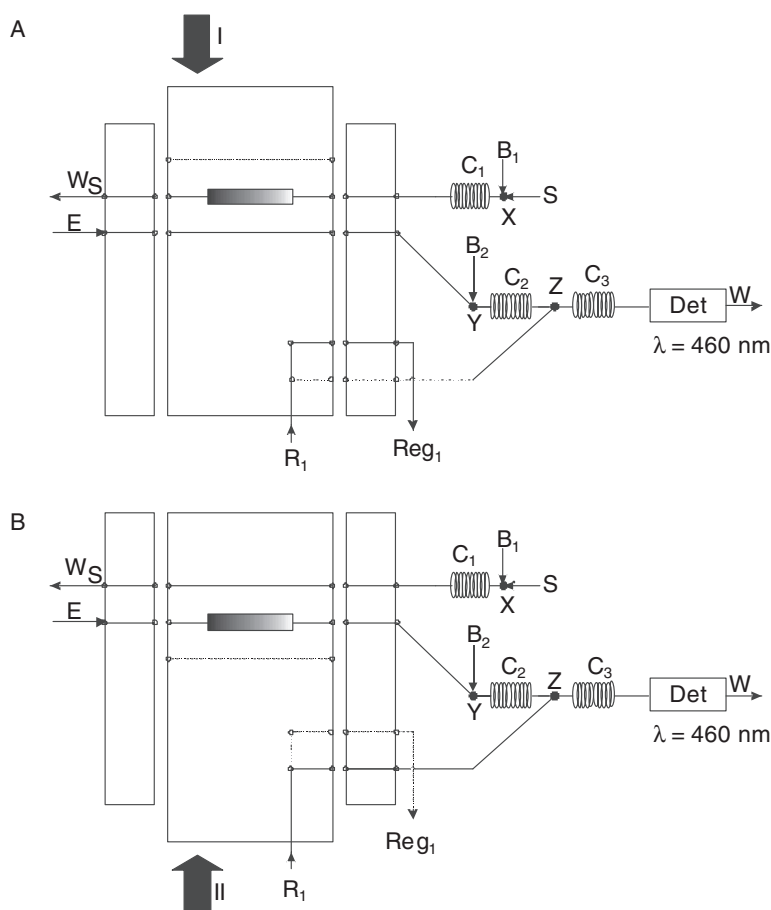


Figure 1. Manifold employed for the determination of Cu^{2+} in water samples. (A) Sampling position using the preconcentration system. (B) Eluting position of the preconcentration system. B_1 : 2.0 mol L^{-1} acetate buffer solution for the preconcentration ($\text{pH } 5.75$), 4.5 mL min^{-1} ; S : sample solution ($\text{pH } 1$), 5.0 mL min^{-1} ; C_1 : coil reactor ($100 \mu\text{L}$) for mixing sample solution and buffer B_1 ; W_S : waste of sample solution and buffer B_1 ; E : eluent $0.60 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$, 2.6 mL min^{-1} ; R_1 : $8.7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ DDTC}$, 2.2 mL min^{-1} ; Reg_1 : regeneration vessel of DDTC ; B_2 : 2.0 mol L^{-1} acetate buffer solution ($\text{pH } 5.75$) for colour-forming reaction, 2.6 mL min^{-1} ; C_2 : coil reactor ($100 \mu\text{L}$) for buffering the sample zone; C_3 : coil reactor ($200 \mu\text{L}$) for colour developing; Det : spectrophotometric flow cell, $150 \mu\text{L}$. $\lambda = 460 \text{ nm}$. X , Y , Z : confluence points.

sample solution and the buffer solution B_1 (2.0 mol L^{-1} acetate buffer, pH 5.75) were merged in the confluence point X; then, these solutions were mixed in the coil C_1 ($100 \mu\text{L}$) and directed to the minicolumn, for sorbing the analyte present in the sample solution, and the aqueous solution was directed to the waste W_S . The chromogenic reagent ($8.7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ DDTC) R_1 was pumped to the regeneration vessel Reg_1 . In the second channel, the carrier solution E (HNO_3) was pumped to the system where, at confluence point Y, it merged with B_2 buffer solution (2.0 mol L^{-1} acetate buffer, pH 5.75) and mixed in the coil mixer C_2 ($200 \mu\text{L}$). Then, the buffered sample zone reached the confluence point Z and subsequently reached the mixture coil C_3 ($200 \mu\text{L}$); this sampling zone passed along the flow-cell ($150 \mu\text{L}$) of the spectrophotometer (460 nm) producing the baseline, and subsequently this solution was directed to the waste (W). After the preconcentration period, the central part of the injector-commutator was slid to the position II (figure 1B), and the minicolumn was inserted in the eluent line, eluting the retained analyte. At the confluence point Y, the sample zone merged with B_2 buffer solution and mixed in the coil mixer C_2 ; then, the buffered sample zone reached the confluence point Z where it merged with the chromogenic reagent and then mixed in the coil mixer C_3 ($200 \mu\text{L}$) forming the $\text{Cu}(\text{DDTC})_2$ complex [44]. This zone was subsequently directed to the flow cell of the spectrophotometer (460 nm), producing a transient signal, and finally this zone was directed to the waste (W).

2.4 Full factorial design

One of the simplest types of factorial designs used in chemistry is one having two levels. The design determines which factors have important effects on a response as well as how the effect of one factor varies with the level of the other factors. Effects are differential quantities expressing how a response changes as the levels of one or more factors are changed. The determination of factor interactions can be important for successful system optimization. In this investigation of copper preconcentration, the analytical signal could depend on mass of the AMPSG sorbent present in the minicolumn, the time of preconcentration, eluent flow rate, analyte flow rate for the preconcentration, and composition of the eluent. Other variables such as coil volumes (C_1 , C_2 and C_3) were optimized previously to the full factorial design, in order to obtain undistorted peak profiles, and also the optimum pH for preconcentration was also previously optimized in univariate mode, because it is known that at some pH values, the adsorption of any analyte does not occur; if this were used incorrectly in the full factorial design, it could lead to a misinterpretation of the results. In addition, it is important to keep some parameters constant in order to diminish the total number of experiments of the full factorial design.

The effects of these factors and their interactions were measured by performing 32 experiments forming the 2^5 full factorial designs given in table 1. For convenience, each factor level was coded as -1 (low) or $+1$ (high), and the effect values were calculated using the following equation [27, 28]:

$$Ef_i = R_i^{(+)} - R_i^{(-)},$$

Table 1. Optimization of flow system for Cu^{2+} preconcentration using AMPSG as sorbent.^a

Experiment	A	B	C	D	E	Analytical signal/ 10^{-3}
1	–	–	–	–	–	38.7
2	+	–	–	–	–	64.0
3	–	+	–	–	–	205.7
4	+	+	–	–	–	182.0
5	–	–	+	–	–	34.0
6	+	–	+	–	–	61.3
7	–	+	+	–	–	181.3
8	+	+	+	–	–	183.0
9	–	–	–	+	–	141.3
10	+	–	–	+	–	142.3
11	–	+	–	+	–	453.3
12	+	+	–	+	–	420.7
13	–	–	+	+	–	158.3
14	+	–	+	+	–	115.7
15	–	+	+	+	–	421.7
16	+	+	+	+	–	422.3
17	–	–	–	–	+	46.7
18	+	–	–	–	+	28.3
19	–	+	–	–	+	251.3
20	+	+	–	–	+	182.0
21	–	–	+	–	+	37.7
22	+	–	+	–	+	66.3
23	–	+	+	–	+	196.7
24	+	+	+	–	+	305.7
25	–	–	–	+	+	270.7
26	+	–	–	+	+	134.3
27	–	+	–	+	+	468.0
28	+	+	–	+	+	441.0
29	–	–	+	+	+	145.0
30	+	–	+	+	+	132.7
31	–	+	+	+	+	436.7
32	+	+	+	+	+	447.7

Variables	Levels		
	–	+	
A	Column mass (g)	0.1002	0.1512
B	Preconcentration time (s)	60	180
C	Eluent flow rate (mL min^{-1})	1.6	4.0
D	Cu^{2+} flow rate (mL min^{-1})	2.5	6.6
E	Eluent concentration (HNO_3 ; mol L^{-1})	0.2	0.6

^a Factorial design 2^5 (32 experiments) aiming the maximum analytical signal. Fixed conditions: 100 ng mL^{-1} Cu^{2+} (pH 1); 2.0 mol L^{-1} acetate buffer pH 6 (buffer B₁ and B₂); chromogenic agent $8.7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ DDTC, 2.2 mL min^{-1} .

where $R_i^{(+)}$ and $R_i^{(-)}$ are the averages of results when the i th factor is at its high (+) or low (–) level independent of the signs of the other effects. Sixteen experimental values make up each average because each column in table 1 has 16 positive and 16 negative signs. The 32 experiments were performed in random order. This complete factorial design is particularly efficient for the evaluation of the main effects of each factor and of the interactions of two or more factors on the Cu^{2+} preconcentration. Univariate methods are unable to measure these interactive effects [33, 40, 41]. The definitions of the factors and levels used in the full factorial design and the analytical signal achieved for Cu^{2+} preconcentration are also presented in table 1. These listed numbers represent the mean value for three independent determinations.

3. Results and discussion

3.1 Preliminary experiments

The best performance of a factorial design depends on some knowledge about the system to be optimized [40]. If the effects of all system parameters to be studied are unknown, the projection of the results obtained with the factorial design could not attain the maximum optimization of the overall system [40]; besides, the total number of experiments required will be excessively increased, making the factorial design very complex [40]. Based on this, preliminary experiments on the optimization of flow-injection preconcentration were carried out replacing the minicolumn with a sample loop of 375 μL (75 cm, 0.8 mm i.d.), and the buffer solution B₁ was not necessary in these experiments. The first variable investigated for the optimization of the reaction between Cu²⁺ and DDTC was the pH (buffer solution B₂). Several 0.8–2.0 mol L⁻¹ buffer solutions, to support higher acidic concentrations of real samples, with pHs ranging from 4.5 to 10.5, were tested. The pH interval that gave a higher analytical signal ranged from 5.0 to 6.5. The 2.0 mol L⁻¹ acetate buffer, with pH adjusted to 5.75, was chosen for the colour-forming reaction (buffer solution B₂). The flow rate of the B₂ buffer solution was also investigated from 2.0 to 5.0 mL min⁻¹. It was observed that the best sensitivity associated with higher reproducibility of the results occurred at flow rates of 2.5 mL min⁻¹. For flow rates higher than 3.5 mL min⁻¹, the RSD for five measurements was worse than 12%.

The concentration of DDTC was fixed at 8.7×10^{-3} mol L⁻¹ because of the limited solubility of this reagent however the chromogenic agent flow rate was investigated. It was observed that DDTC flow rates ranging from 2.0 to 4.0 mL min⁻¹ did not present significant changes in the analytical signals. A flow rate of 2.2 mL min⁻¹ DDTC was used throughout this work. It is important to point out that the colour-forming reagent was introduced intermittently in the flow system, thus saving this reagent [45]. Considering a time of 60 s for a colour-developing reaction, a mass of 3.30 mg of DDTC was used for each determination. The introduction of the chromogenic agent intermittently was only possible because this reagent solution is colourless and does not cause any changes in the baseline [45].

The dimensions of coil reaction C₂ and C₃ were also investigated, and the dimensions that promoted the highest and sharpest analytical signal were 100 and 200 μL , respectively. The C₂ reaction coil served to buffer the sample zone prior to the addition of the chromogenic agent. After adding the DDTC to the buffered sample zone, this reaction zone was mixed in the reaction coil C₃. It should be stressed that higher volumes of reaction coils (C₂ and C₃) led to broad peak profiles that lasted more than 20 s to return to the baseline after the appearance of the maximum of the peak. The conditions optimized above were used in the flow-injection preconcentration procedure.

3.2 Optimization of the copper flow-injection preconcentration system and figures of merit

The AMPSG sorbent presents two chelating sites to the metal ion, as depicted in scheme 1. The formation of five- and six-member-ring chelates is thermodynamically favourable, leading to high complex formation constants (K_f); however, the conditional

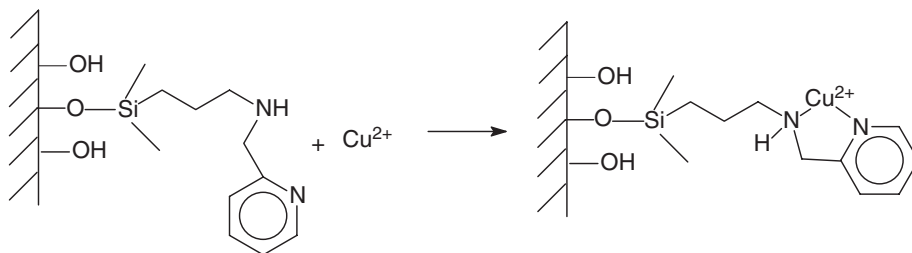
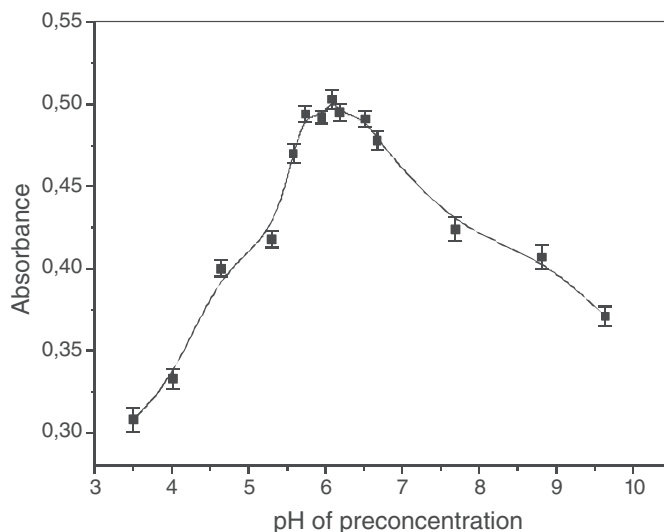
Scheme 1. Sorption of Cu^{2+} on AMPSG.

Figure 2. Effect of the acidity on the sorption of Cu^{2+} on AMPSG. Chromogenic agent $8.7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ DDTC, 2.2 mL min^{-1} ; buffer for colour-forming reaction: 2.0 mol L^{-1} acetate buffer solution (pH 5.75); 2.6 mL min^{-1} ; 250 ng mL^{-1} Cu^{2+} ; sample flow rate 5.0 mL min^{-1} ; time of preconcentration 120 s; buffer flow rate 3.6 mL min^{-1} ; eluent 0.40 mol L^{-1} HNO_3 , 2.0 mL min^{-1} ; time of elution 30 s; time of regeneration 30 s.

complex formation constant depends strongly on the pH of the reaction [46]. Figure 2 shows the effect of the pH, of the buffer solution in the entrance of the minicolumn, on the sorption of Cu^{2+} on the AMPSG. As can be seen, the maximum signal was obtained when the pH of the buffer solution in the entrance of the minicolumn was fixed at 5.5–6.5. Based on these results, the buffer solution used for the preconcentration of Cu^{2+} in acidic water samples (pH 1) was 2.0 mol L^{-1} acetate buffer pH adjusted to 5.75. It should be stressed that the pH measured at the exit of the minicolumn was 5.4.

Statistical methods of experimental design and systematic optimization such as factorial design have been applied to different systems [33, 40, 41], because of their abilities to extract relevant information from systems while requiring a minimum number of experiments. In this context, a full factorial design (2^5 , $n = 32$ experiments) was carried out [33, 40, 41] to optimize the flow system for Cu^{2+} preconcentration using AMPSG as sorbent. The aim of this factorial design was to obtain the maximum analytical signal, which means a high preconcentration of the system allowing the

Cu^{2+} determination in low concentrations. The definitions of the factors and levels used in the complete design are presented in table 1.

The estimated effects and the coefficients of the model were calculated using Minitab Statistical Software Release 13.20 TM for calculating all the statistical parameters, and the results are presented in table 2. As can be seen, the variables time of preconcentration (B) and analyte flow rate (D) (sampling loading), as well as their interaction (BD), had more significant effects on the overall preconcentration system. The statistical significance of all the effects can be determined by plotting the effect values on a cumulative probability graph [40] (see figure 3A). The effect values are graphed on the abscissa, whereas the expected normal score values for a normal distribution are graphed on the ordinate. Points corresponding to a normal distribution are expected to be located on a vertical line centred about the origin. The effects these points

Table 2. Main, interaction effect, coefficients of the model, and standard deviation of each effect and coefficient for the full 2^5 factorial design.

	Effects/ 10^{-3}	Coefficients/ 10^{-3}
Average		
I	–	213.0 ± 6.2
Main effects		
a	-9.9 ± 12.3	4.93 ± 6.2
b	223.9 ± 12.3	111.9 ± 6.2
c	-7.8 ± 12.3	-3.88 ± 6.2
d	167.9 ± 12.3	83.9 ± 6.2
e	22.8 ± 12.3	11.4 ± 6.2
Interaction of two factors		
ab	6.1 ± 12.3	3.0 ± 6.2
ac	25.2 ± 12.3	12.6 ± 6.2
ad	-19.9 ± 12.3	9.9 ± 6.2
ae	-4.5 ± 12.3	-2.2 ± 6.2
bc	6.7 ± 12.3	3.3 ± 6.2
bd	60.0 ± 12.3	30.0 ± 6.2
be	9.6 ± 12.3	4.8 ± 6.2
cd	-16.2 ± 12.3	-8.1 ± 6.2
ce	1.0 ± 12.3	0.5 ± 6.2
de	2.2 ± 12.3	1.1 ± 6.2
Interaction of three factors		
abc	9.1 ± 12.3	4.5 ± 6.2
abd	11.7 ± 12.3	5.9 ± 6.2
abe	14.2 ± 12.3	7.1 ± 6.2
acd	-6.3 ± 12.3	-3.2 ± 6.2
ace	23.1 ± 12.3	11.6 ± 6.2
ade	-6.9 ± 12.3	-3.5 ± 6.2
bcd	3.6 ± 12.3	1.8 ± 6.2
bce	11.2 ± 12.3	5.6 ± 6.2
bde	-15.8 ± 12.3	-7.9 ± 6.2
cde	-15.1 ± 12.3	-7.5 ± 6.2
Interaction of four factors		
abcd	-10.3 ± 12.3	-5.1 ± 6.2
abce	-3.4 ± 12.3	-1.7 ± 6.2
acde	1.2 ± 12.3	0.6 ± 6.2
abde	-1.6 ± 12.3	-0.8 ± 6.2
bcde	4.2 ± 12.3	2.1 ± 6.2
Interaction of five factors		
abcde	-16.9 ± 12.3	-8.4 ± 6.2

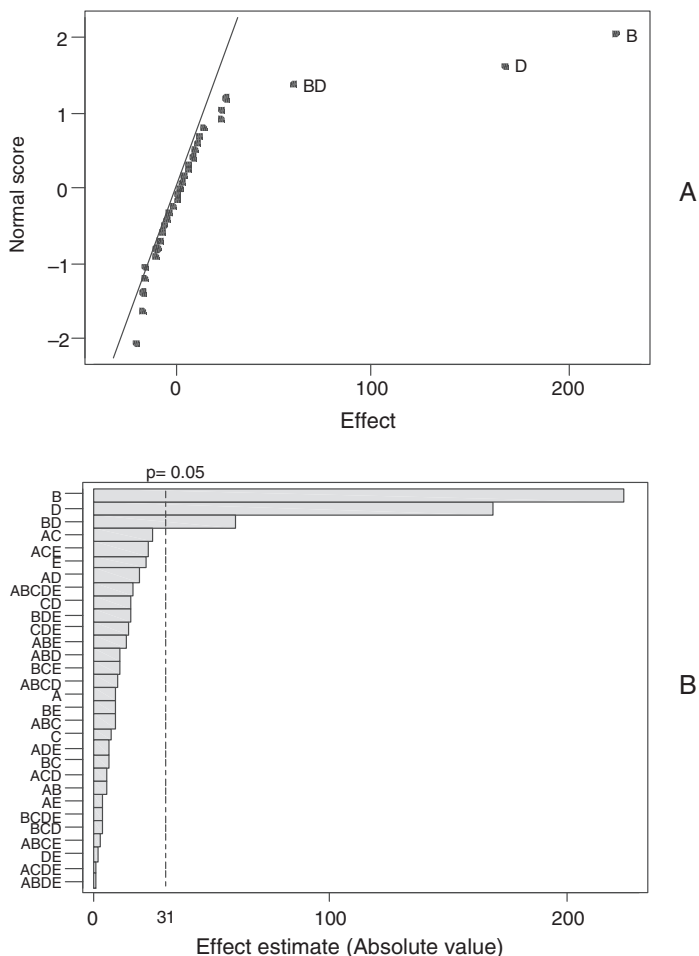


Figure 3. (A) Cumulative probability graph for the effect values of the 2^5 factorial design of table 2. (B) Pareto plot of the effects on the Cu^{2+} preconcentration, at 5% probability.

represent are not significant and only provide estimates of effect errors. Only three points are clearly removed from the line in the centre of the graph, and have statistically significant effect values: the variables time of preconcentration (*B*), analyte flow rate or sampling loading (*D*) and its interaction (*BD*). The variables mass of sorbent present in the minicolumn (*A*), eluent flow rate (*C*), and eluent composition (*E*) did not have any significant effects on the overall preconcentration. As a confirmation of these results, figure 3B shows the Pareto plot of all estimated effects. As can be seen at 5% probability, only the variables *B* and *D* and their interaction (*BD*) are significant, and all other effects could be eliminated from the model. Therefore, the full 2^5 factorial design (32 experiments) could be reduced to a full 2^2 factorial design with eight replicates, by just deleting the columns of the variables *A*, *C* and *E* of the factorial design in table 2, without the need to carry out new experiments. Reintroducing these eight values for a 2^2 factorial design, the calculated standard deviation of each effect was 12.3 and for each coefficient 6.2, respectively (table 2).

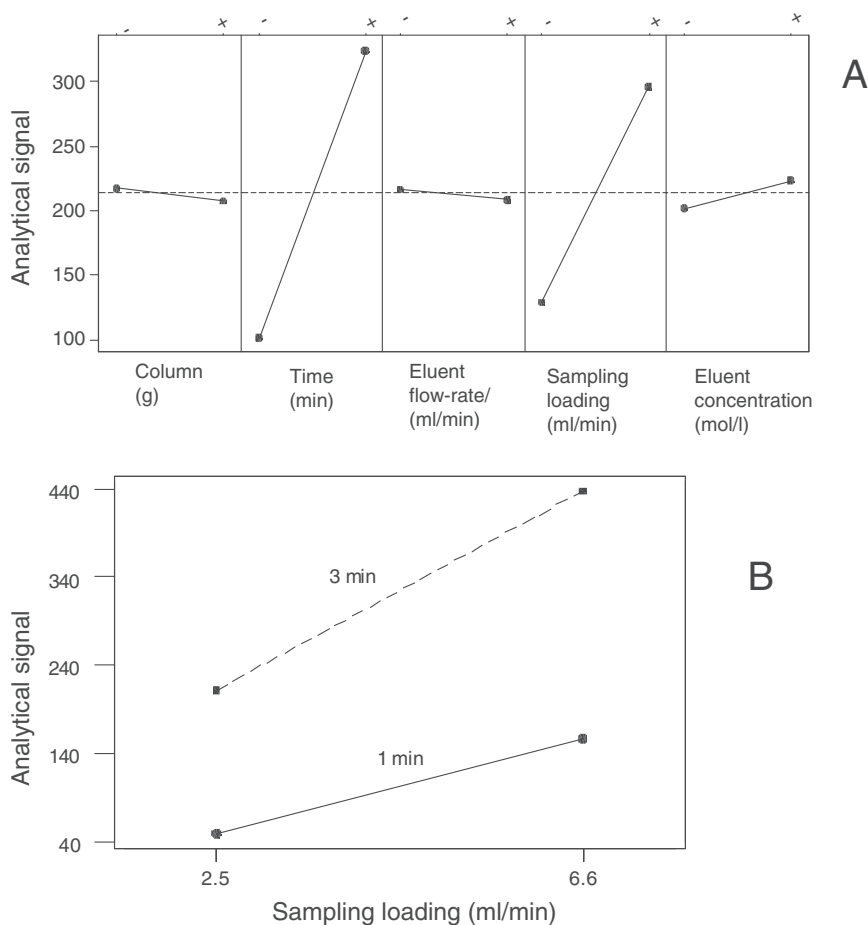


Figure 4. (A) Variation of analytical signal with all variables, mass of adsorbent present in the column, time of preconcentration, eluent flow rate, sampling loading, eluent concentration. (B) Analytical signal in the function of sampling loading at two different times of preconcentration. The analytical signal values are multiplied by 1000.

Figure 4A shows the variation in analytical signal in function of all tested factors. The slope of the lines when the levels of the variables changed from this lower level (–) to its higher level (+) indicates the significance of each individual variable on the overall process. As can be seen, the slope of the mass of adsorbent present in the column (A) and eluent concentration (C) are slightly negative, and the slope of eluent concentration is slightly positive, indicating that these variables are not significant in the overall optimization of copper preconcentration. On the other hand, the slopes of the variables' time of preconcentration (B) as well as analyte loading (D) are significantly positive. This graph shows only the individual variables on the overall optimization of the system. Figure 4B shows the change in analytical signal with sampling loading for two different times of preconcentration (1 and 3 min). As can be seen at 3 min, the slope of the line for the variation of the analytical signal with the sampling loading is higher than at 1 min, indicating that there is an interaction between the sampling loading (D) and the time of preconcentration (B). It should be stressed that this

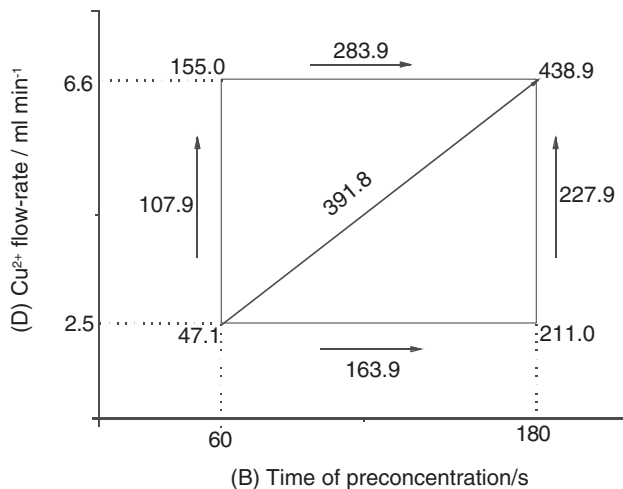


Figure 5. Graphical interpretation of simplified 2^2 factorial design for Cu^{2+} preconcentration. The analytical signal values have been multiplied by 1000.

interaction between the variables B and D could only be evaluated using the factorial design. In a univariate study of these variables, this interaction would never be noted [33, 40, 41].

The amount of sorbent in the minicolumn (A) was not significant because the AMPSG shows a high adsorption capacity 0.84 mmol g^{-1} [42], and the total amount of Cu^{2+} that percolated the minicolumn did not surpass the total capacity of the minicolumn. This conclusion was also confirmed by the time of preconcentration (B), when the time of preconcentration was varied from 60 (level $-$) to 180 s (level $+$), the analytical signal augmented by 4.5 times (47.1×10^{-3} to 211.0×10^{-3}) when the analyte flow rate (D) was kept at its minimum value and 2.8 times (155.0×10^{-3} to 438.9×10^{-3}) when the analyte flow rate was kept at its maximum value (see figure 5). If the adsorption capacity of the column were surpassed, the increase in the preconcentration time would not promote an increase in the analytical signal. In addition, to confirm the high adsorption capacity of the adsorbent to Cu^{2+} , the analyte flow rate also reinforces to this statement. When the Cu^{2+} flow rate was increased from 2.5 (level $-$) to 6.5 mL min^{-1} (level $+$), the analytical signal increased by a factor of 3.3 (47.1×10^{-3} to 155.0×10^{-3}) when the preconcentration time was kept at this minimum value, and the analytical signal increased by 2.1 factor (211.0×10^{-3} to 438.9×10^{-3}) when the preconcentration time was kept at this maximum value (figure 5). The more analyte percolates the column, the higher the analytical signal obtained, until the sorbent is saturated with the analyte. As the adsorption capacity of the minicolumn was not surpassed, the analytical signal increased by increasing both the Cu^{2+} flow rate as well as the loading time. By changing both the preconcentration time and the analyte flow rate from these respective low levels ($-$) to their high levels ($++$), the analytical signal increased 9.3-fold (47.1×10^{-3} to 438.9×10^{-3}) (see figure 5). This interpretation shows the effect of interaction of the preconcentration time factor (B) with the Cu^{2+} flow-rate factor (D).

The eluent composition (E) and its flow rate (C) did not have any significant effects on the overall optimization of the preconcentration system, and their values were kept

at the minimum level (0.2 mol L^{-1} of HNO_3 and 1.6 mL min^{-1} , respectively) so that they could be used in the flow-injection preconcentration system.

Using all the optimized conditions of the preconcentration of Cu^{2+} on the AMPSG sorbent, the analytical curve obtained for Cu^{2+} solution ranging from 50 to 300 ng mL^{-1} was linear according to the equation $A = 9.12 \times 10^{-2} + 2.97 \times 10^{-3} [\text{Cu}^{2+}]$, $r = 0.99913$, where Cu^{2+} concentrations are expressed in ng mL^{-1} .

The preconcentration factor obtained was 77, and it was calculated by the relation of the slope of preconcentration curve divided by the slope of the curve without preconcentration.

For determining the detection limit of the method, 20 measurements of the blank solution (0.2% HNO_3 , pH 1) were performed (average absorbance of the blank, 0.053, RSD% 5.55%). The detection limit of the method defined as $3S/\text{slope}$ analytical curve, where S is the standard deviation of determination $n = 20$, was 3.0 ng mL^{-1} . The quantification limit ($10S/\text{slope}$ analytical curve) was 9.9 ng mL^{-1} ($n = 20$). The detection limit of the method could be improved if ultra-pure buffer reagents were used, although this did not preclude the copper determination in the water samples.

The sample throughput obtained was 15 determinations per hour (180 s preconcentration time, 30 s elution time, 30 s regeneration of the column).

3.3 Interference studies

The effect of several elements on the sorption of 250 ng mL^{-1} Cu^{2+} on the AMPSG sorbent (0.1002 g) was investigated. The recovery value is defined as 100 times the relationship between the signal of Cu^{2+} plus concomitants divided by the signal of Cu^{2+} alone. The tolerance level was established at $100 \pm 5\%$ as a reference. The Na^+ and K^+ ions could be tolerated up to 5000 mg L^{-1} , Mg^{2+} up to 500 mg L^{-1} , Ca^{2+} up to 1000 mg L^{-1} , Fe^{3+} up to 50 mg L^{-1} , to Mn^{2+} up to 20 mg L^{-1} , Ni^{2+} up to 10 mg L^{-1} , Zn^{2+} up to 10 mg L^{-1} , Al^{3+} up to 20 mg L^{-1} , Ba^{2+} up to 20 mg L^{-1} , Co^{2+} up to 20 mg L^{-1} , and Cr^{3+} up to 20 mg L^{-1} . Based on these results, it can be concluded that the method could be successfully applied to the determination of Cu^{2+} in natural waters and brackish waters, since the concentrations of the concomitant species in these kinds of sample are usually lower than the proposed preconcentration method can tolerate [47].

3.4 Determination of Cu^{2+} in water samples using the proposed preconcentration system

The proposed preconcentration system using AMPSG as a sorbent was used for the determination of Cu^{2+} ($n = 5$) in four synthetic brackish waters (table 3). The percentages of Cu^{2+} recovery ranged from 95.8 to 103.3%, and these values are supported by the individual interference studies presented in the previous section.

In addition, the system was also used for copper determination in 14 ordinary natural water samples, and one water reference material was used (table 4), in order to achieve the accuracy of the preconcentration procedure. In addition, a recovery study was also carried out by spiking the water samples with 50 ng mL^{-1} Cu^{2+} . The recoveries ranged from 95.4 to 104.7%.

Based on the results of tables 3 and 4, it can be inferred that Cu^{2+} can be successfully determined in natural and brackish waters with a good accuracy, employing a simple preconcentration system using AMPSG as a sorbent and spectrophotometric detection.

Table 3. Determination of loaded and found values: Cu^{2+} recovery percentage in brackish water samples ($n=5$) and several cationic species detected (M^{n+}) during the sorption process.

	[Cu^{2+}]/ng mL ⁻¹ water sample			
	I	II	III	IV
Cu^{2+}				
Loaded	60.0	100.0	200.0	250.0
Found	62.0	98.2	195.0	239.6
Recovery (%)	103.3	98.2	97.5	95.8
M^{n+} /mg L ⁻¹				
Na^+	20.0	14.0	40.0	1000
K^+	11.0	22.0	16.0	500
Ca^{2+}	7.0	7.60	17.0	1000
Mg^{2+}	6.0	30.0	8.40	300
Al^{3+}	1.50	0.70	0.40	1.20
Ba^{2+}	3.00	2.50	1.50	2.00
Co^{2+}	0.40	0.50	0.67	0.08
Cr^{3+}	0.24	0.24	0.50	0.50
Fe^{2+}	1.70	1.80	2.50	2.00
Mn^{2+}	0.22	1.00	1.20	1.00
Ni^{2+}	0.09	0.24	0.60	0.35
Zn^{2+}	0.12	0.30	0.80	0.40

Table 4. Determination of Cu^{2+} in water samples ($n=5$) using an on-line preconcentration system.^a

Samples	[Cu^{2+}] ± S /ng mL ⁻¹	Rec/%
NIST 1640 ^b	85.6 ± 1.7	100.1
Tap water	119.3 ± 2.0	96.1
Spring water	219.6 ± 2.7	101.1
Stream water	203.6 ± 1.7	96.3
Streamlet water	144.8 ± 2.8	102.6
Countryside river water	83.3 ± 2.2	101.4
Urban river water	225.8 ± 2.7	96.6
Well water I	232.4 ± 3.0	99.2
Well water II	211.3 ± 2.2	104.7
Waste water I ^c	2232 ± 15	97.5
Waste water II ^c	2782 ± 22	95.4
Waste water III ^c	1046 ± 15	100.3
Waste water IV ^c	2105 ± 27	99.6
Waste water V ^c	1544 ± 30	98.1
Waste water VI ^c	1354 ± 27	100.4

^a The results are expressed as average value ± standard deviation S ($n=5$) and the percentage recovery (Rec). The samples were spiked with 50 ng mL⁻¹ Cu^{2+} ; ^b certified value: 85.2 ± 0.9 ng mL⁻¹; ^c dilution factor: 10.0.

4. Conclusion

A simple flow preconcentration system for the determination of Cu^{2+} using DDTC as chromogenic agent and AMPSG as a sorbent was successfully used for the determination of the analyte in natural and brackish water samples. A full factorial design 2⁵ for optimization of the analytical conditions for Cu^{2+} preconcentration showed that only the preconcentration time and analyte loading and its respective interaction

Table 5. Comparison among several flow-injection preconcentration procedures for copper(II) determination.^a

Sorbent	Detector	DL (ng mL ⁻¹)	PT	EF	Method features	Reference
Poly(aminophosphonic acid) chelating resin	FAAS	1.6	75 s	19	No	20
3-(1-Imidazolyl)propyl grafted silica gel	FAAS	0.4	90 s	25.8	Interference from 20 mg L ⁻¹ Fe ³⁺ , 2 mg L ⁻¹ Zn ²⁺ and 10 mg L ⁻¹ Mg ²⁺	25
Amberlite XAD-4 impregnated with 1-(2-pyridyl-azo)-2-naphtol	FAAS	0.06	50 min	30	Lifetime of the column 10 cycles	27
Unloaded polyurethane foam	FAAS	0.2	60 s	170	Sorption capacity 4.0 mg of Cu ²⁺ per gram of sorbent	28
C18- silica gel	FAAS	2.0	60 s	19	Interference from 1.0 mg L ⁻¹ Fe ³⁺	29
Amberlite XAD-2 impregnated with calmagite	FAAS	0.15	3 min	32	Interference from Fe ³⁺ , Cr ⁶⁺	30
Amberlite XAD-2 functionalized with 3,4-dihydroxibenzoic acid	FAAS	0.27	2 min	33	Interference from 0.90 mg L ⁻¹ of Zn ²⁺ and Fe ³⁺	31
Brown alga impregnating silica gel	ICP-AES	0.6	2 min	13	Lifetime of the column 30 cycles	35
TiO ₂ impregnated with 1-(2-pyridyl-azo)-2-naphtol	ICP-AES	2.8	75 min	75	Suffers severe interference of 10.0 mg L ⁻¹ of Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , and Mg ²⁺	36
2-Aminomethylpyridine grafted silica-gel	VIS $\lambda = 460$ nm	3.0	3 min	77	Sorption capacity 53.4 mg g ⁻¹ of sorbent	This work

^a PT: preconcentration time; EF: enrichment factor; DL: detection limit.

were significant. Using the best conditions, the copper preconcentration factor achieved with the AMPSG was 77, using a preconcentration period of just 3 min; in addition, the detection limit of 3.0 ng mL^{-1} was also attained. Therefore, it is possible to determine copper in environmental water samples with a detection limit better than that achieved with graphite furnace atomic spectrometry (6.4 ng mL^{-1}) [48], although the cost of implementing the proposed procedure is less than US\$4000. A graphite furnace spectrometer costs no less than US\$50,000. Therefore, when the use of flow preconcentration systems using good sorbents as AMPSG becomes widespread, the analysis of a low concentration of elements could be carried out in any simple analytical laboratory.

Table 5 lists several flow-injection preconcentration procedures involving different kinds of adsorbents, using FAAS and ICP-AES detectors. As can be seen, the previously published preconcentration procedures achieved detection limits better than this present work, whose determination was based on colorimetric determination of Cu^{2+} with DDTC. The main reason for this achievement is the better detection power and selectivity of FAAS and ICP-AES in relation to colorimetric detectors. On the other hand, the best characteristics of the adsorbent are those obtained with the organofunctionalized silica gel [25] and the proposed one. Adsorbents whose adsorption group is not chemically bonded to the support have a shorter lifetime [27, 30, 35, 36], where the active groups responsible for the sorption are usually leached out after a few preconcentration cycles; also, these procedures are prone to suffer interference from concomitant species present in the samples, due to the low adsorption capacities. Preconcentration procedures involving the use of organic solvents [28, 29] are not suitable nowadays, because many of these procedures use toxic solvents [28] that are harmful to humans, besides increasing the cost of the procedure [29]. Adsorbents with a low adsorption capacity [25, 31] also suffer from interference caused by the main concomitants of real samples, thus limiting their use in more complex samples [25, 31]. It is important to point out that the determination of Cu^{2+} in natural water samples employing the flow-injection preconcentration system with colorimetric detection was only possible because the highest adsorption capacity of 2-aminomethylpyridine grafted silica gel (0.84 mmol g^{-1}) was not surpassed during the preconcentration procedure.

Acknowledgements

We are grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support and fellowships.

References

- [1] E.C. Lima, J.L. Brasil, A.H.D.P. Santos. *Anal. Chim. Acta*, **484**, 233 (2003).
- [2] E.C. Lima, J.L. Brasil, J.C.P. Vaghetti. *Talanta*, **60**, 103 (2003).
- [3] E.C. Lima, J.L. Brasil, A.H.D.P. dos Santos. *Microchim. Acta*, **146**, 22 (2004).
- [4] J.L. Brasil, E.C. Lima, R.C. Veses, M.M. Tisott. *At. Spectrom.*, **25**, 94 (2004).
- [5] N.G. Becka, R.P. Franks, K.W. Bruland. *Anal. Chim. Acta*, **455**, 11 (2002).
- [6] K. Oshita, J. Xu, Y.H. Gao, K.H. Lee, M. Oshima, S. Motomizu. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **76**, 1555 (2003).
- [7] M.E. Mahmoud, M.S.M. Al-Saadi. *Anal. Chim. Acta*, **450**, 239 (2001).

- [8] E.M. Soliman, M.E. Mahmoud, S.A. Ahmed. *Talanta*, **54**, 243 (2001).
- [9] K.S. Abou-El-Sherbini, I.M.M. Kenawy, M.A. Hamed, R.M. Issa, R. Elmorsi. *Talanta*, **58**, 289 (2002).
- [10] M.M. Osman, S.A. Kholeif, N.A. Abou Al-Maaty, M.E. Mahmoud. *Microchim. Acta*, **143**, 25 (2003).
- [11] J.C.P. Vaghetti, M. Zat, K.R.S. Bentes, L.S. Ferreira, E.V. Benvenutti, E.C. Lima. *J. Anal. At. Spectrom.*, **18**, 376 (2003).
- [12] D. Prabhakaran, M.S. Subramanian. *Talanta*, **59**, 1227 (2003).
- [13] P.K. Jal, S. Patel, B.K. Mishra. *Talanta*, **62**, 1005 (2004).
- [14] C.E. Harland. *Ion Exchange: Theory and Practice*, 2nd Edn, pp. 1–285, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK (1994).
- [15] H. Bergamin-Filho, B.F. Reis, A.O. Jacintho, E.A.G. Zagatto. *Anal. Chim. Acta*, **117**, 81 (1980).
- [16] M.M. Santos-Filha, B.F. Reis, H. Bergamin-Filho, N. Baccan. *Anal. Chim. Acta*, **261**, 339 (1992).
- [17] J. Ruzicka, E.H. Hansen. *Flow Injection Analysis*, 2nd Edn, Wiley, New York (1988).
- [18] Y. Baba, H. Noma, R. Nakayama, Y. Matsushita. *Anal. Sci.*, **18**, 359 (2002).
- [19] C. Airoidi, R.F. Farias. *Quim. Nova*, **23**, 496 (2000).
- [20] M.C. Yebra-Biurrun, A. Bermejo-Barrera, M.P. Bermejo-Barrera, M.C. Barciela-Alonso. *Anal. Chim. Acta*, **303**, 341 (1995).
- [21] M.C. Yebra, M.F. Enriquez, A. Garcia, A. Moreno-Cid. *Fres. J. Anal. Chem.*, **370**, 64 (2001).
- [22] P. Liu, Z. Shu, X. Wu, Q. Pu. *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**, 125 (2002).
- [23] S. Zhang, Q. Pu, P. Liu, Q. Sun, Z. Su. *Anal. Chim. Acta*, **452**, 223 (2002).
- [24] Q. Pu, P. Liu, Q. Sun, Z. Su. *Microchim. Acta*, **143**, 45 (2003).
- [25] E.L. da Silva, A.O. Martins, A. Valentini, V.T. de Fávare, E. Carasek. *Talanta*, **64**, 181 (2004).
- [26] P. Liu, Q. Pu, Q. Su, Z. Su. *Anal. Sci.*, **19**, 409 (2003).
- [27] M.C. Yebra, N. Carro, M.F. Enriquez, A. Moreno-Cid, A. Garcia. *Analyst*, **2001**, 933 (2001).
- [28] A.N. Anthemidis, G.A. Zachariadis, J.A. Stratis. *Talanta*, **58**, 831 (2002).
- [29] A. Ali, Y. Ye, G. Xu, X. Yin. *Fres. J. Anal. Chem.*, **365**, 642 (1999).
- [30] S.L.C. Ferreira, V.A. Lemos, B.C. Moreira, A.C.S. Costa, R.E. Santelli. *Anal. Chim. Acta*, **403**, 259 (2000).
- [31] V.A. Lemos, P.X. Baliza, R.T. Yamaki, M.E. Rocha, A.P.O. Alves. *Talanta*, **61**, 675 (2003).
- [32] T.P. Rao, J.M. Gladis. *Anal. Sci.*, **18**, 517 (2002).
- [33] S. Ceruti, J.A. Salonia, S.L.C. Ferreira, R.A. Olsina, L.D. Martinez. *Talanta*, **63**, 1077 (2004).
- [34] M. Zougagh, P.C. Rudner, A.G. de Torres, J.M.C. Pavón. *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**, 423 (2004).
- [35] E.N.V.M. Carilho, J.A. Nóbrega, T.R. Gilbert. *Talanta*, **60**, 1131 (2003).
- [36] L. Yang, B. Hu, Z. Jiang, Huilin Pan. *Microchim. Acta*, **144**, 227 (2004).
- [37] C. Pons, M. Miro, E. Becerra, J.M. Estela, V. Cerda. *Talanta*, **62**, 887 (2004).
- [38] H. Bagheri, A. Gholami, A. Najafi. *Anal. Chim. Acta*, **424**, 233 (2000).
- [39] S.V.M. Moraes, J.L. Brasil, C.D. Milcharek, L.C. Martins, M.T. Laranjo, M.R. Gallas, E.V. Benvenutti, E.C. Lima. *Spectrochim. Acta A* (In press).
- [40] B. de Barros Neto, I.S. Scarminio, R.E. Bruns. *Como fazer experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*, Editora da UNICAMP, Campinas, Brazil (2001).
- [41] S. Cerutti, S.L.C. Ferreira, J.A. Gásquez, R.A. Olsina, L.D. Martinez. *J. Hazard. Mater.*, **112**, 279 (2004).
- [42] J.A.A. Sales, F.P. Faria, A.G.S. Prado, C. Airoidi. *Polyhedron*, **23**, 719 (2004).
- [43] E.A.G. Zagatto, A.O. Jacintho, B.F. Reis, F.J. Krug, H. Bergamin Filho, L.C.R. Pessenda, J. Mortatti, M.F. Giné. *Manual de Análises de Plantas e Águas empregando sistemas de injeção em fluxo*, Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba-SP (1981).
- [44] H. Cesur. *J. Trace Microprobe Tech.*, **21**, 627 (2003).
- [45] E.A.G. Zagatto, A.O. Jacintho, J. Mortati, H. Bergamin-Filho. *Anal. Chim. Acta*, **120**, 399 (1980).
- [46] M.G. Fonseca, C. Airoidi. *J. Therm. Anal. Calorim.*, **64**, 273 (2001).
- [47] *Database of Natural Matrix Reference Materials*, compilation prepared by International Atomic Energy Agency (IAEA), last update January 2003. Available online at: <http://www.iaea.org/programmes/nahunet/e4/nmrm/browse.htm> (accessed 24 April 2004).
- [48] E.C. Lima, F. Barbosa Jr, F.J. Krug, A. Tavares. *Talanta*, **57**, 177 (2002).

Statistical design of experiments as a tool for optimizing the batch conditions to Cr(VI) biosorption on *Araucaria angustifolia* wastes

Jorge L. Brasil^a, Ricardo R. Ev^a, Caroline D. Milcharek^a, Lucas C. Martins^a, Flavio A. Pavan^a, Araci A. dos Santos Jr.^a, Silvio L.P. Dias^a, Jairton Dupont^a, Caciano P. Zapata Noreña^b, Eder C. Lima^{a,*}

^a Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Caixa Postal 15003, CEP 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

^b Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, RS, Brazil

Received 30 May 2005; received in revised form 4 October 2005; accepted 4 October 2005

Available online 16 November 2005

Abstract

In order to reduce the total number of experiments for achieving the best conditions for Cr(VI) uptake using *Araucaria angustifolia* (named pinhão) wastes as a biosorbent, three statistical design of experiments were carried out. A full 2⁴ factorial design with two blocks and two central points (20 experiments) was experimented (pH, initial metallic ion concentration— C_0 , biosorbent concentration— X and time of contact— t), showing that all the factors were significant; besides, several interactions among the factors were also significant. These results led to the performance of a Box–Behnken surface analysis design with three factors (X , C_0 and t) and three central points and just one block (15 experiments). The performance of these two statistical designs of experiments led to the best conditions for Cr(VI) biosorption on the pinhão wastes using a batch system, where: pH 2.0; $C_0 = 1200 \text{ mg l}^{-1}$ Cr(VI); $X = 1.5 \text{ g l}^{-1}$ of biosorbent; $t = 8 \text{ h}$. The maximum Cr(VI) uptake in these conditions was 125 mg g^{-1} . After evaluating the best Cr(VI) biosorption conditions on pinhão wastes, a new Box–Behnken surface analysis design was employed in order to verify the effects of three concomitant ions (Cl^- , NO_3^- and PO_4^{3-}) on the biosorption of Cr(VI) as a dichromate on the biosorbent (15 experiments). These results showed that the tested anions did not show any significant effect on the Cr(VI) uptake by pinhão wastes. In order to evaluate the pinhão wastes as a biosorbent in dynamic system, a glass column was fulfilled with pinhão wastes (4.00 g) as biosorbent, and it was fed with 25.0 mg l^{-1} Cr(VI) at pH 2.0 and 2.5 ml min^{-1} . The breakpoint was attained when concentrations of effluent of the column attained the value of 0.05 mg l^{-1} Cr(VI) using 5550 ml of the metallic ion solution. In these conditions, the biosorbent was able to remove completely Cr(VI) from aqueous solution with a ratio of Cr(VI) effluent volume/biosorbent volume of 252.3.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: *Araucaria angustifolia* wastes; Biosorption; Chromium(VI); Factorial design; Box–Behnken surface analysis

1. Introduction

Chromium(VI) is largely employed in the chemical industry for chrome plating, the manufacture of dyes and pigments, leather tanning, wood preserving, battery, rust and corrosion inhibitors, textiles, rubbers, toner for copying machines and cement-producing plants [1]. Waste streams from all these industries can discharge Cr(VI) into waterways [1] causing severe impact to the environment [2]. In addition, chromium(VI) has

been reported to be carcinogen to humans [1]. The maximum allowed amount of Cr(VI) in natural waters is only 0.05 mg l^{-1} [1]. In this way, Cr(VI) must be removed from industrial effluents, before being delivered into the environment.

The common procedures for Cr(VI) removal from industrial effluents include chemical precipitation [3], ion-exchange resins [4], organic groups grafted on textiles [5] and separation by specific membranes [6]. The chemical precipitation is usually employed at the beginning of effluent treatment; however, to attain the toxic specie residual concentration in the effluent with the acceptable contents according with the legislation, other operations are required. Notwithstanding the ion-exchange resins, modified textiles and specific membrane provide to be

* Corresponding author. Fax: +55 51 3316 7304.

E-mail address: ederlima@iq.ufrgs.br (E.C. Lima).

suitable for removal of residual concentrations of toxic elements from industrial effluents; however, these procedures are very expensive, hindering their large application in industrial effluent treatments [4–6].

Activated carbon has been widely employed as the most popular adsorbent for the effluent treatment [7,8]. Besides its extensive use, activated carbon of high quality remains costly [7,8]. Besides that, the activated carbon requires the use of chelating agents for the removal of inorganic species, making this procedure even more expensive.

Due to the high costs of commercial adsorbents, biosorption is an economic feasible way to perform the treatment of potentially toxic species containing effluents. The cellular walls of biomass contain carboxylic acids, phenols, amine and amide groups which are able to complex heavy metals. The most studied biosorbents for Cr(VI) removal from aqueous solutions were the microorganisms [2,9–13]. However, the limitation of these biosorbents for industrial effluent treatment is its low available biomass. On the other hand, agro-industrial, marine and botanic residues are usually available in large amounts, allowing its application as biosorbents in industrial effluent treatment plants. These biosorbents such as hazelnut shell [14], cone biomass of tree [15], sugar beet pulp [16], rice husks [17,18], coirpith [17], sawdust [17,18], nut shell [18], peat moss [18,19], waste tea and exhausted coffee [18], chitosan [18–20], waste crab shell [21], bagasse fly ash [19], mucilaginous seeds [22], grape stalks [23], cork [23], olive stones [23], tree bark [18,23] and charcoal [17,24] have been employed for Cr(VI) removal from aqueous solutions.

The *Araucaria angustifolia* syn. *Araucaria brasiliensis* is a tall tree (30–52 m) of the genus *Araucaria* [25] which occupies large areas in the south and southeast of Brazil and east of Argentina [25]. The flowering of the *A. angustifolia* produces a bunch of seeds, which is named pinha. Each one of these presents a diameter of 10–25 cm and contains about 700–1200 scales with about 150 seeds weighing up to 4.7 kg [25]. The seeds are named pinhão, which contains a resistant coat that involves it [26]. The pinhão is cooked in water and it is largely consumed in Brazil. The coat of the pinhão seed is usually discarded on the garbage, and it takes so much time to being decomposed. Other foodstuffs from pinhão have been developed in Brazil generating about 10 tonnes of pinhão coat per year. Due to the need to find new and inexpensive adsorbents for metal removal, and also to diminish the large amounts of pinhão wastes, in this work is presented the first application of the use of pinhão wastes as a biosorbent for successful removal of chromium(VI) from aqueous samples.

2. Experimental

2.1. Biosorbent preparation

Pinhão was acquired at local market in Porto Alegre-RS, Brazil. The weight of each seed varied between 7 and 9 g. The seed coats correspond to approximately 22% of the seed. About 2 kg of pinhão was cooked in a 10 l glass beaker for 2 h, and then the seed was separated from the coat. The brown aqueous

solution resulted from the pinhão cooking containing oxidized phenols [26] was discarded. Afterwards, the pinhão wastes were again heated to boiling for 2 more hours, in order to remove the water soluble phenolic compounds [26], in order to avoid releases of these compounds to the water solutions. Subsequently, the pinhão wastes were washed with distilled water, dried at 70 °C in an air-supplied oven for 8 h. After that, the pinhão wastes were grounded in a disk-mill and subsequently sieved. The fraction of biosorbent with diameter of particles lower than 250 µm was used. The apparent density of the powder pinhão wastes was 0.18 g cm⁻³, and it presented an intense brown coloration that was assigned to polyphenols [26] which must be the main organic compounds responsible for biosorption of chromium(VI).

2.2. Reagents and solutions

Doubly distilled water was throughout employed.

A 5000 mg l⁻¹ chromium(VI) stock solution was prepared dissolving 14.144 g of K₂Cr₂O₇ (Vetec, Rio de Janeiro-RJ, Brazil) in water and completing the final volume to 1.00 l. Working Cr(VI) solutions from 5.00 to 1200.0 mg l⁻¹ were prepared from suitable serial dilution of the stock solution. The pH adjustments of the solutions were made with aliquots of 1.0 mol l⁻¹ of H₂SO₄ and NaOH, utilizing a pH/mV hand-held meter handy-lab 1 Schott (Mainz, Germany) provided with combined glass electrode model Blue-Line 23.

The 1.0 g l⁻¹ of 1,5-diphenylcarbazine (DPC) solution was made dissolving 250 mg of DPC in 100.0 ml of ethanol and completing the final volume to 250.0 ml with water.

For the interference studies on the chromium(VI) uptake by the biosorbent the following salts of elements were employed: NaCl (Merck), KNO₃ (Merck) and NaH₂PO₄ (Merck).

For recovery of Cr(VI) loaded pinhão wastes, a 3.00 mol l⁻¹ of H₂O₂ (Merck) was employed.

2.3. Chromium(VI) batch biosorption procedure

An aliquot of 20.00 ml of 5.00–1200.0 mg l⁻¹ Cr(VI) was added to a conical plastic tube (117 mm height and 30 mm diameter) containing 30.0–150.0 mg of pinhão wastes. The flasks were capped, poured horizontally in a horizontal shaker and agitated for 5 min–12 h. Afterwards, the flasks were filtered, using glass filter provided with Whatman filter paper, in order to separate the biosorbent from the aqueous solution, and aliquots of 1–5 ml of the supernatant were properly diluted to 50–100 ml in calibrated flasks using water. The chromium final concentrations were spectrophotometrically determined using DPC at 540 nm [27], after multiplying the measured concentration value found in the solution after the biosorption procedure, by the proper dilution factor.

The removal of Cr(VI) from aqueous solution was determined by Eq. (1), and the amount of Cr(VI) uptaken by the biosorbent is given by Eq. (2).

$$\% \text{ removal} = \frac{C_o - C_f}{C_o} \cdot 100 \quad (1)$$

$$q = \frac{C_o - C_f}{X} \quad (2)$$

where q is the amount of metallic ion uptaken by the biosorbent (mg g^{-1}), C_o the initial Cr(VI) concentration put in contact with the biosorbent (mg l^{-1}), C_f the Cr(VI) concentrations (mg l^{-1}) after the batch biosorption procedure and X is the biomass concentration (g l^{-1}).

2.4. Statistical design of experiments

2.4.1. Full factorial design

Factorial design is employed to reduce the total number of experiments in order to achieve the best overall optimization of the system [28–30]. The design determines which factors have important effects on a response as well as how the effect of one factor varies with the level of the other factors. The determination of factor interactions could only be attained using statistical designs of experiments [28,30], since it cannot be shown when the system optimization is carried out by varying just one factor at the time and fixing the others.

For studying the chromium(VI) biosorption on pinhão wastes, the amount of biosorbed metallic ion (q) could depend on the acidity of the medium (pH), initial chromium(VI) concentration (C_o), biosorbent concentration (X) and the time of contact (t). Other variables such as speed of agitation was kept at 120 strikes/min and temperature was kept at 25 °C. A full 2^4 factorial design employed is given in Table 1. The factor levels were coded as -1 (low), 0 (central point) and 1 (high) [28,29]. For treatment of datum, the Minitab Statistical Software release 14.1 was employed throughout in order to obtain the effects, coefficients, standard deviation of coefficients and other statistical parameters of the fitted models.

2.4.2. Box–Behnken response surface design

After performing a screening of the factors with the factorial design, a response surface analysis statistical procedure [29] was employed in order to achieve the highest metal uptake. The experimental set was carried out according to Table 2. After optimizing the chromium(VI) uptake by pinhão wastes, the interference effects of Cl^- , NO_3^- and PO_4^{3-} on dichromate uptake were also evaluated using a Box–Behnken response surface design (Table 3). The percent of interference on chromium(VI) adsorption was obtained by using the following equation:

$$\% \text{interference} = \left(\frac{q_{\text{Cr(VI)} + \text{concomitants}}}{q_{\text{Cr(VI)} \text{ alone}}} - 1 \right) \cdot 100 \quad (3)$$

where $q_{\text{Cr(VI)} + \text{concomitants}}$ is the chromium(VI) uptake by the biosorbent in the presence of concomitant species and $q_{\text{Cr(VI)} \text{ alone}}$ is the chromium(VI) uptake by the biosorbent in the absence of concomitant species.

2.5. Column adsorption studies

A glass column of 250 ml containing a porous sintered glass disk at the bottom and a Teflon stopcock was packed with 4.00 g

Table 1
Optimization of chromium(VI) biosorption on pinhão wastes

Experiments	Blocks	pH	C_o	X	t	q (mg g^{-1})
1	1	1	-1	-1	-1	1.61
2	1	-1	1	-1	-1	71.30
3	1	-1	-1	1	-1	42.35
4	1	1	1	1	-1	12.82
5	1	-1	-1	-1	1	90.01
6	1	1	1	-1	1	37.64
7	1	1	-1	1	1	20.77
8	1	-1	1	1	1	64.74
9	1	0	0	0	0	26.56
10	1	0	0	0	0	26.82
11	2	-1	-1	-1	-1	58.01
12	2	1	1	-1	-1	21.54
13	2	1	-1	1	-1	9.90
14	2	-1	1	1	-1	48.28
15	2	1	-1	-1	1	17.42
16	2	-1	1	-1	1	104.76
17	2	-1	-1	1	1	50.15
18	2	1	1	1	1	23.90
19	2	0	0	0	0	26.19
20	2	0	0	0	0	24.55

Factors	Levels		
	-1	0	1
pH	2.0	3.0	4.0
C_o (mg l^{-1})	400.0	500.0	600.0
X (g l^{-1})	2.50	5.00	7.50
t (h)	1.0	4.5	8.0

A full 2^4 factorial design divided in two blocks containing two central points per block.

Table 2
Optimization of chromium(VI) biosorption on pinhão wastes

Experiments	Blocks	X	C_o	t	q (mg g^{-1})
1	1	-1	-1	0	90.66
2	1	1	-1	0	101.02
3	1	-1	1	0	125.20
4	1	1	1	0	121.51
5	1	-1	0	-1	112.31
6	1	1	0	-1	100.24
7	1	-1	0	1	116.63
8	1	1	0	1	110.86
9	1	0	-1	-1	88.99
10	1	0	1	-1	120.31
11	1	0	-1	1	76.75
12	1	0	1	1	101.67
13	1	0	0	0	89.65
14	1	0	0	0	89.65
15	1	0	0	0	87.48

Factors	Levels		
	-1	0	1
C_o (mg l^{-1})	600.0	900.0	1200.0
X (g l^{-1})	1.50	2.00	2.50
t (h)	8.0	10.0	12.0

Box–Behnken design containing 15 experiments, and 3 factors (X , C_o and t). The pH was adjusted to 2.0.

Table 3

Interference studies on the chromium(VI) uptake by pinhão wastes, using Box–Behnken design, containing 15 experiments, and 3 factors (Cl^- , NO_3^- and PO_4^{3-})

Experiments	Blocks	Cl^-	NO_3^-	PO_4^{3-}	Interference (%)
1	1	-1	-1	0	1.75
2	1	1	-1	0	-4.50
3	1	-1	1	0	-7.66
4	1	1	1	0	-5.31
5	1	-1	0	-1	-6.16
6	1	1	0	-1	3.67
7	1	-1	0	1	1.09
8	1	1	0	1	0.17
9	1	0	-1	-1	-4.22
10	1	0	1	-1	-2.76
11	1	0	-1	1	-4.97
12	1	0	1	1	6.51
13	1	0	0	0	5.50
14	1	0	0	0	-6.48
15	1	0	0	0	0.02

Factors	Levels		
	-1	0	1
Cl^- (mg l^{-1})	1000.0	1500.0	2000.0
NO_3^- (mg l^{-1})	1000.0	1500.0	2000.0
PO_4^{3-} (mg l^{-1})	1000.0	1500.0	2000.0

The conditions employed were: pH 2.0, $C_0 = 1000.0 \text{ mg l}^{-1}$ Cr(VI), $t = 8 \text{ h}$ and concentration of pinhão wastes 1.50 g l^{-1} .

of pinhão wastes, which occupied 22 ml of this column. Above the packing material, the column was filled with 25.0 mg l^{-1} Cr(VI) solution. The effluent column flow-rate was adjusted to 2.5 ml min^{-1} and the height of the Cr(VI) above the biosorbent was kept constant by feeding the column with a peristaltic pump (Milan, Colombo-PR, Brazil). The column effluents were collected at each 50.0 ml and Cr(VI) was spectrophotometrically determined using DPC at 540 nm [27].

3. Results and discussion

3.1. Preliminary experiments

The best performance of a factorial design depends on some knowledge about the system to being optimized [30]. If the values of all system parameters to be studied are unknown, the projection of the results obtained with the factorial design could not attain the maximum optimization of overall system [30]; besides, the total number of experiments required will be excessively increased, making the factorial design very complex [30]. Based on this, preliminary experiments about the optimization of the biosorption of Cr(VI) on pinhão wastes were carried out using 5.00 – 100.0 mg l^{-1} Cr(VI), the acidity was adjusted at pH 2.0 according to literature [15], biosorbent concentration of 5 g l^{-1} , speed of agitation of 120 strikes/min and contact time of 5–360 min. It was observed that for solutions 5.00 mg l^{-1} of Cr(VI) after shaking for 5 min, the removal of Cr(VI) from solution was 100.0% (see Fig. 1). For a 100.0 mg l^{-1} of Cr(VI) solution a similar behavior was observed; how-

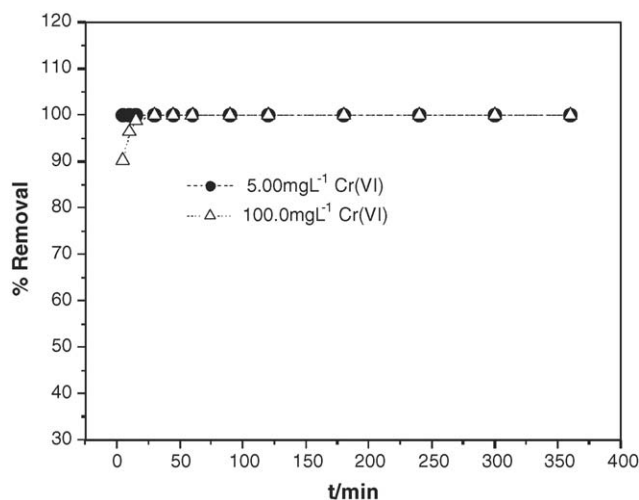


Fig. 1. Removal of Cr(VI) from aqueous solution by the pinhão wastes biosorbent. Agitation speed 120 strikes/min, biosorbent concentration (X) 5.00 g l^{-1} and pH 2.0.

ever, at 5 min the removal of the element was 90.2% and attained 100.0% after 30 min of contact with the biosorbent (Fig. 1).

The total number of experiments carried out in this investigation was 24 (12 h), and the only valuable information is that the pinhão wastes presented to be a powerful biosorbent for Cr(VI) removal from aqueous solution at pH 2.0, since a 100.0 mg l^{-1} of Cr(VI) was completely removed after just 30 min of contact with pinhão wastes. This concentration value is about 5–10 times higher than that found in real industrial effluents [17], which confirms the potential application of this biosorbent for Cr(VI) removal from aqueous solutions.

In order to continue the investigation of Cr(VI) uptake by pinhão wastes, the maximum amount of the metallic ion was optimized using statistical design of experiments.

3.2. Screening of factors for dichromate uptake by pinhão wastes

Metallic ion uptake by a biosorbent in a batch system usually depends on several factors, such as acidity of medium (pH), initial metallic ion concentration (C_0), concentration of the biosorbent (X) and time of contact between the metallic ion and the biosorbent (t), speed of shaking, etc. The optimization of all those variables using the univariate procedure is very tedious, because any variable (factor) is optimized, by varying just one factor by the time and fixing the others. Then, the best value achieved by this procedure is fixed and other factors will be varied by the time. The disadvantage of this univariate procedure is that the best condition could not be attained, because the interactions among all the factors are neglected, and also it is not known if the set of other fixed variables were kept at other levels, the results would lead to the same optimization. In addition, the total number of experiments to be carried out in the univariate procedure is much higher when compared with statistical design of experiments.

In this work, the factors screened were pH, initial Cr(VI) concentration (C_0), biosorbent concentration (X) and time of contact between the biosorbent and Cr(VI) (t), for best metallic ion uptake using a batch adsorption system. The experiments of Table 1 ($n=20$, performed in two blocks of 8 h) were carried out, based on the preliminary experiments described above, obtaining the metallic ion uptake (q) in milligram of Cr(VI) per gram of pinhão wastes. The definitions of the factors and the levels used in the complete design are presented in Table 1. Main, interaction effect, coefficients of the model, and standard deviation of each coefficient, and probability for the full 2^4 factorial design are presented in Table 4. As can be seen, almost all main factors and their interactions were significant at 5% of probability level ($p < 0.05$). All the effects and interactions that presented probability lower than 0.05 were significant. With the exception of block ($p = 0.052$), $\text{pH} \cdot C_0$ ($p = 0.467$) and $C_0 \cdot X \cdot t$ ($p = 0.087$) all other effects were significant at 95% of confidence level. The block was performed on two different working days making the two central points measurements in each block. The information that the block was not significant was very important, since the days to perform the measurements would not influence the metallic ion uptake by the biosorbent, at 5% level, which confirmed the robustness of the biosorption procedure. In addition, it should be highlighted that the four member interaction, $\text{pH} \cdot C_0 \cdot X \cdot t$, was aliased with the block term, which meant that its value was confounded with the block value, and did not appear in Table 4. In addition, the fit model presented an adjusted square correlation coefficient (R^2 adjusted) of 99.93%, fitting very well the statistical model. In this way, the Cr(VI) uptake by pinhão wastes could be expressed as the following

equation:

$$q = 42.20 - 24.00\text{pH} + 5.92C_0 - 8.08X + 8.97t + 6.73\text{pH} \cdot X - 2.24\text{pH} \cdot t - 2.60C_0 \cdot X + 0.66C_0 \cdot t - 3.20X \cdot t - 1.66\text{pH} \cdot C_0 \cdot X - 0.60\text{pH} \cdot C_0 \cdot t + 1.95\text{pH} \cdot X \cdot t + 0.45C_0 \cdot X \cdot t \quad (4)$$

The values of the factors being coded, its levels are valid only to the levels described in Table 1. The positive values of effects meant that an increase in their levels led to an increase in the metallic ion uptake by the biosorbent (q); on the other hand, the negative values of the effects led to a diminution of the response (q), when their levels were increased.

In order to better evaluate each factor and its interaction, in Fig. 2A is presented the normal probability plot of standardized effects. This graph could be divided in two regions: the region with percent below 50%, where the factors and their interactions presented negative coefficients (pH , X , $X \cdot t$, $C_0 \cdot X$, $\text{pH} \cdot t$, $\text{pH} \cdot C_0 \cdot X$ and $\text{pH} \cdot C_0 \cdot t$), and the region with percent above 50%, where the factors presented positive coefficients (t , C_0 , $\text{pH} \cdot X$, $\text{pH} \cdot X \cdot t$ and $C_0 \cdot t$). All these factors and interactions which were represented as a square were significant figures, and they were out of the central line that crosses the zero value at the abscissa at the 50%. The effects positioned in this line were represented by a circle and correspond to the estimate of errors of the effects, being not significant ($\text{pH} \cdot C_0$ and $C_0 \cdot X \cdot t$).

In Fig. 2B is presented the Pareto Chart of standardized effects at $p = 0.05$. All the standardized effects were in absolute values (to verify which were positives and negatives, see Fig. 2A). All the values that presented an absolute value higher than 3.2 ($p = 0.05$), which were located at right of the dash line, were significant. The absolute standardized value of the effect of each factor and its interaction appeared at the right of each bar.

Analyzing the graphs of Fig. 2 and the values of Table 4, it can be inferred that the pH was the most important variable of the overall biosorption procedure. The negative value of its coefficient meant that the chromium(VI) uptake by pinhão wastes was favored at low pH values (pH 2.0). The increase in the pH led to a remarkable decrease of Cr(VI) uptake by the pinhão wastes, as reported earlier by Ucuñ et al. [15].

In order to avoid a disruption of the pinhão wastes at pH lower than 2.0, this value was fixed for continuing the optimization of this work. The second important factor for overall optimization of the batch system was the time of contact between the biosorbent and the biosorbate. An increase of the time of contact increased remarkably the chromium(VI) uptake by pinhão wastes. This factor was further optimized in the surface response analysis design, by increasing this level to higher values. The third factor important to the overall optimization of the biosorption process was the biosorbent concentration (X). As these biosorption experiments were carried out in a batch system using conical plastic tubes (117 mm height and 30 mm diameter), the amount of biosorbent was limited to the conical plastic tube dimension for performing the experiments. This justifies that low biosorbent concentration led to highest metallic ion

Table 4
Factorial fit: q vs. block; pH; C_0 ; X ; t

Term	Effect	Coefficient	S.E. of coefficient	p
Constant		42.20	0.1774	0.000
Block		0.50	0.1587	0.052
Main factors				
pH	-48.00	-24.00	0.1774	0.000
C_0	11.84	5.92	0.1774	0.000
X	-16.17	-8.08	0.1774	0.000
t	17.95	8.97	0.1774	0.000
Interaction of two factors				
$\text{pH} \cdot C_0$	-0.29	-0.15	0.1774	0.467
$\text{pH} \cdot X$	13.46	6.73	0.1774	0.000
$\text{pH} \cdot t$	-4.48	-2.24	0.1774	0.001
$C_0 \cdot X$	-5.20	-2.60	0.1774	0.001
$C_0 \cdot t$	1.33	0.66	0.1774	0.033
$X \cdot t$	-6.39	-3.20	0.1774	0.000
Interaction of three factors				
$\text{pH} \cdot C_0 \cdot X$	-3.32	-1.66	0.1774	0.003
$\text{pH} \cdot C_0 \cdot t$	-1.20	-0.60	0.1774	0.043
$\text{pH} \cdot X \cdot t$	3.91	1.95	0.1774	0.002
$C_0 \cdot X \cdot t$	0.89	0.45	0.1774	0.087
Central point (cp)		-16.17	0.3967	0.000

Estimated effects and coefficients for q (coded units). Full 2^4 factorial design. The effects and coefficients are given in coded units. Block is aliased with $\text{pH} \cdot C_0 \cdot X \cdot t$. $S = 0.709667$. $R^2 = 99.99\%$. R^2 (adjusted) = 99.93%.

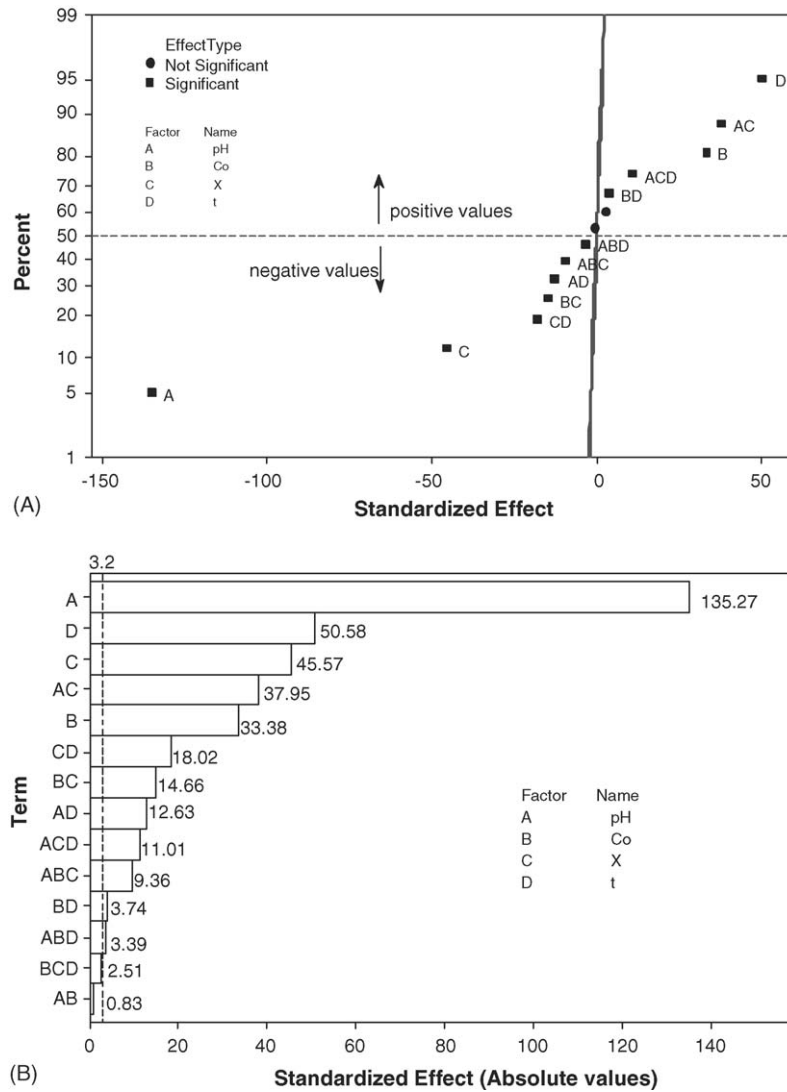


Fig. 2. (A) Normal probability plot of standardized effects at $p=0.05$. The dotted line at 50% divides the negative effects from the positive ones. (B) Pareto plot of standardized effects at $p=0.05$.

uptake (negative coefficient value). In the further experiments of surface response analysis design, biosorbent concentration was decreased. The fourth important factor for overall optimization of the biosorption system was the interaction of two factors pH · X which was more significant than the main factor C_0 . Only the achievement of this result justifies the use of the statistical design of experiments over the conventional univariate process of optimization of the system. This information would not be acquired in a univariate optimization of the biosorption system. Otherwise, if the system were being optimized by using univariate procedure, a small diminution of the pH of the solution associated with a small diminution of biosorbent concentration could lead to a misinterpretation of the results achieved with the univariate procedure. Probably, the experimenter would remake all the measurements, because a small negative variation of the pH of the solution associated with a small decrease in the biosorbent concentration would lead to an unexplained increase in the metallic ion uptake, that could not be explained using the univariate procedure of optimization

of the system. The fifth important factor to overall optimization was the initial concentration of chromium(VI), C_0 . This result showed that the initial concentration of the metallic ion should be increased in order to achieve the highest response (q), and this factor was further studied in the surface response analysis design, by increasing its levels. The decreasing order from the 6th to the 12th, in the ranking of the overall optimization of the biosorption system, in absolute values was: $X \cdot t > C_0 \cdot X > pH \cdot t > pH \cdot X \cdot t > pH \cdot C_0 \cdot X > C_0 \cdot t > pH \cdot C_0 \cdot t$.

In Table 5 is presented the analysis of variance for the full 2^4 factorial design with two blocks and two center points per block. As can be seen, the main factors, two-way interactions and three-way interactions were significant at 5% of probability level ($p < 0.05$), as discussed above. In addition to this, this analysis of variance has shown that this model presented a curvature, since its probability was lower than 5.0×10^{-4} , which meant that the curvature of the model should exist. In order to verify this fact, in Fig. 3 are shown the mean changes that occurred in the response (q) when the levels of the factors were changed from the lower

Table 5
Analysis of variance for q of the full 2^4 factorial design (coded units)

Source	d.f.	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Blocks	1	4.9	4.9	4.94	9.80	0.052
Main effects	4	12110.5	12110.5	3027.63	6011.65	0.000
2-Way interaction	6	1084.7	1084.7	180.79	358.97	0.000
3-Way interaction	4	114.2	114.2	28.54	56.67	0.004
Curvature	1	836.8	836.8	836.78	1661.50	0.000
Residual error	3	1.5	1.5	0.50		
Lack of fit	1	0.1	0.1	0.14	0.20	0.700
Pure error	2	1.4	1.4	0.69		
Total	19	14152.6				

d.f.: degree of freedom, Seq SS: sequential sum of squares, Adj SS: adjusted sum of squares, F : factor F and p : probability.

level (–) going to higher level (+), passing the central point (0). Each lower (–) and higher level (+) was the average of eight measurements and the central point (0) was the average of four measurements. As can be seen, the response value at the central point did not correspond to the average of the response value for all the main factors studied. There should be a curvature of the responses, and a surface analysis design should be carried out in order to achieve a better comprehension of the biosorption system.

3.3. Surface analysis

After performing a screening of factors using a full 2^4 factorial design, a Box–Behnken response surface design was carried out according to the experiments described in Table 2 ($n = 15$ and 12 h), in order to achieve the highest chromium uptake (q) by the pinhão wastes. The levels of the chosen factors were set based on the previous factorial analysis described above, using increasing contact time between the Cr(VI) and pinhão wastes up to 12 h, increasing initial Cr(VI) concentration up to 1200 mg l^{-1} and diminishing the biosorbent concentration as low as 1.5 g l^{-1} .

In Fig. 4 are shown the contour plots of the response (q) for initial concentration versus biosorbent concentration (Fig. 4a),

time of contact versus biosorbent concentration (Fig. 4b) and time of contact versus initial concentration (Fig. 4c). As can be seen, the highest metallic uptake by the pinhão wastes occurred at higher initial Cr(VI) concentration (1200 mg l^{-1} Cr(VI)), lower time of contact (8 h) and lower pinhão wastes concentration (1.5 g l^{-1}). Under these conditions, the maximum Cr(VI) uptake was 125 mg g^{-1} .

The effect of time was not so significant when the contact time between the metallic ion and the biosorbent ranged from 8 to 12 h. In order to confirm these results, in Table 6 is presented the response surface regression of q as function of X , C_0 and t . As can be seen, the time of contact between the Cr(VI) and pinhão wastes was not significant from 8 to 12 h ($p > 0.05$). Therefore, it is better to choose a lower contact time to perform the experiments, in order to save time.

Also, analyzing Table 6, it can be verified that at the levels chosen of the factors in Table 2, any interaction between any factor was not verified. In addition, at 5% of probability level, it can be seen that the full quadratic model does not fit properly (R^2 adjusted lower than 70.0%), because just the initial metallic ion concentration (C_0) and the square mass of biosorbent (m^2) were relevant in the model ($p < 0.05$). By this reason, the full quadratic model should be reduced to the relevant factors, and these results are shown in Table 7.

The analysis of variance of the reduced quadratic model is presented in Table 8. As can be seen, both the linear and square

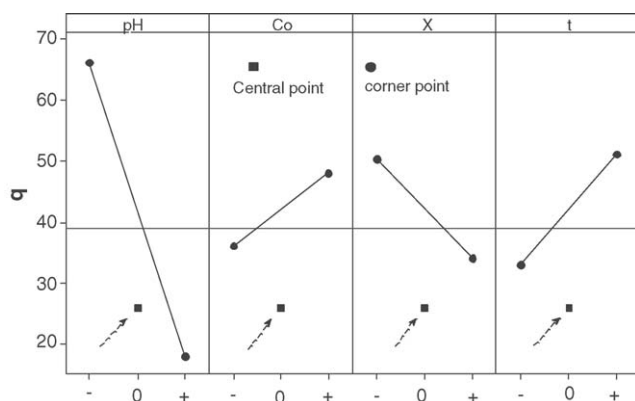


Fig. 3. Main effects plot (data means) for metallic ion uptake by biosorbent (q). Each low (–) and high level (+) was the average of eight measurements and the central point (0) was the average of four measurements. The arrow indicates the curvature, when the factor is increased from their low value (–) to the higher level (+) passing through the center point (0).

Table 6
Response surface regression for Cr(VI) uptake in pinhão wastes

Term	Coefficient	S.E. of coefficient	p
Constant	88.823	4.767	0.000
X	–1.398	2.919	0.652
C_0	13.907	2.919	0.005
t	–1.995	2.919	0.525
X^2	16.878	4.297	0.011
C_0^2	3.795	4.297	0.418
t^2	4.210	4.297	0.372
$X \cdot C_0$	–3.512	4.129	0.434
$X \cdot t$	1.574	4.129	0.719
$C_0 \cdot t$	–1.598	4.129	0.715

Full quadratic model. p : probability and S.E.: standard error of coefficient. The coefficient values are given in coded units. $S = 8.257$. $R^2 = 89.0\%$. R^2 (adjusted) = 69.3%.

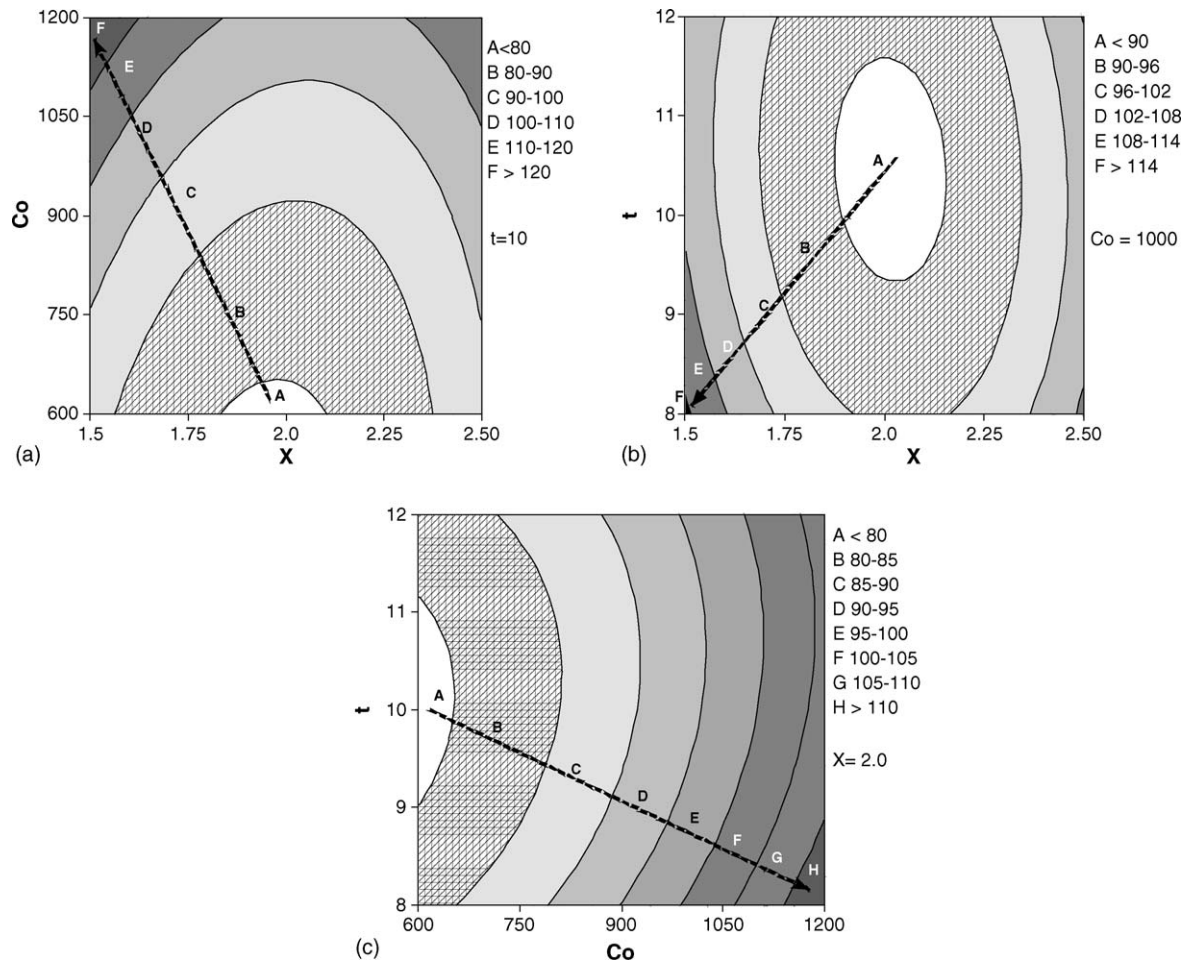


Fig. 4. Contour plot of q : (a) C_0 vs. X ; (b) t vs. X ; (c) t vs. C_0 . The regions of the contour plot are divided in several regions, where the response q is expressed in mg g⁻¹. The arrows indicate the increase in the q at several regions. The time (t) is expressed in h, C_0 is expressed in mg l⁻¹ and X is expressed in g l⁻¹.

regressions were significant ($p < 0.05$) at 5% of probability level. In addition, the lack of fit was not significant at 5% of probability level. Therefore, the equation for the surface analysis can be written as: $q = 93.498 + 13.907C_0 + 16.307X^2$ (coded units).

After optimizing the chromium(VI) biosorption conditions (pH 2.0, $C_0 = 1200$ mg l⁻¹, $X = 1.5$ g l⁻¹ and $t = 8$ h), a study of potential species that could interfere on the chromium uptake by the pinhão wastes was carried out. The choice of the concomitant species and their concentrations was based on species found in tannery effluents [17]. As the working solutions were adjusted to pH 2.0 using sulphuric acid, the anion sulphate was not investigated in this study.

Table 7
Response surface regression for metallic ion uptake in pinhão wastes

Term	Coefficient	S.E. of coefficient	p
Constant	93.498	2.678	0.000
X	-1.398	2.505	0.588
C_0	13.907	2.505	0.000
X^2	16.307	3.668	0.001

Reduced quadratic model. p : probability and S.E.: standard error of coefficient. The coefficient values are given in coded units. $S = 7.086$. $R^2 = 82.8\%$. R^2 (adjusted) = 77.4%.

The experiments of Table 3 were carried out, and the percent of interference was calculated according to Eq. (3). Table 9 presents the response surface regression for interference study on Cr(VI) uptake. As can be seen, there was no significant interference at 5% of probability level, of all tested concomitant species and either any interaction between these concomitant species. All the coefficients present $p > 0.05$, and also the constant was not significant. In addition, the model presented an adjusted square correlation coefficient of 0.00%. Based on these

Table 8
Analysis of variance for q for reduced quadratic model of surface design (coded units)

Source	d.f.	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Regression	3	2555.52	2555.52	851.840	16.96	0.000
Linear	2	1562.81	1562.81	781.403	15.56	0.001
Square	1	992.72	992.72	992.715	19.77	0.001
Residual error	11	552.39	552.39	50.217		
Lack of fit	5	234.84	234.84	46.968	0.89	0.542
Pure error	6	317.55	317.55	52.924		
Total	14	3107.91				

d.f.: degree of freedom, Seq SS: sequential sum of squares, Adj SS: adjusted sum of squares, F : factor F and p : probability.

Table 9
Response surface regression for interference study on Cr(VI) uptake by pinhão wastes

Term	Coefficient	S.E. of coefficient	<i>p</i>
Constant	-0.3200	3.290	0.926
Cl ⁻	0.6263	2.015	0.768
NO ₃ ⁻	0.3400	2.015	0.873
PO ₄ ³⁻	1.5337	2.015	0.481
(Cl ⁻) ²	-1.2788	2.965	0.684
(NO ₃ ⁻) ²	-2.3313	2.965	0.467
(PO ₄ ³⁻) ²	1.2912	2.965	0.681
(Cl ⁻) · (NO ₃ ⁻)	2.1500	2.849	0.484
(Cl ⁻) · (PO ₄ ³⁻)	2.6875	2.849	0.389
(NO ₃ ⁻) · (PO ₄ ³⁻)	2.5050	2.849	0.420

Full quadratic model. *p*: probability and S.E.: standard error of coefficient. The coefficient values are given in coded units. *S*=5.698. *R*²=44.3%. *R*²(adjusted)=0.0%.

results, there was no significant interference on chromium(VI) uptake by pinhão wastes promoted by Cl⁻, NO₃⁻ and PO₄³⁻.

3.4. Destination of the pinhão wastes loaded with Cr(VI) and mechanism of biosorption of chromium(VI) on the biosorbent

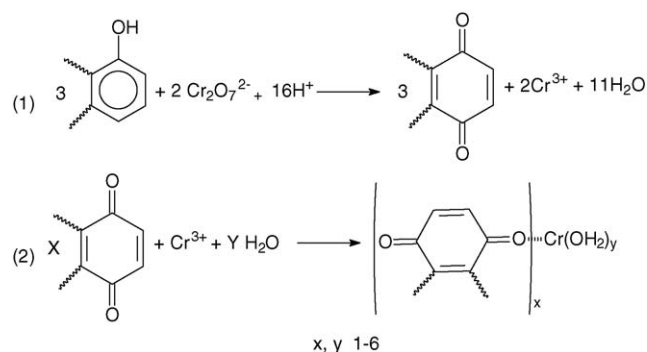
After performing several experiments of biosorption of Cr(VI) on pinhão wastes, it was necessary to try to regenerate the wastes. The first trial was to pack 1.00 g of loaded Cr(VI) on pinhão wastes in a glass minicolumn. Several solutions of NaCl with pH adjusted to 8.0–9.0 were percolated by the column and the effluent was retained to analysis. No chromium was desorbed from the column. This result ruled out the hypothesis of the electrostatic attraction between the positively charged pinhão wastes by the anion Cr₂O₇²⁻. If the electrostatic attraction were in fact the correct mechanism of biosorption, it would be possible to regenerate the pinhão wastes just by increasing the ionic strength of the medium associated with an increase in the pH of the solution. And also to reinforce that this mechanism was not correct for Cr(VI) biosorption, the interference study of Cl⁻, NO₃⁻ and PO₄³⁻, described above, did not show any significant effect of all those anions to Cr(VI) uptake by the pinhão wastes.

A second trial was carried out by passing a 3.0 mol l⁻¹ of H₂O₂ in basic medium (pH 10.0) by the biosorbent column [31]. It was observed that the column effluent was a yellowish solution that is characteristic of chromate solution [31]. Afterwards, the effluent solution was measured with DPC, which confirmed the presence of Cr(VI).

This result confirmed several mechanisms of biosorption of Cr(VI) employing different biosorbents, which was attributed to the reduction of Cr(VI) to Cr(III) followed by the chelation of this last specie with the oxidized organic compound [8,14,16].

As it is known, pinhão wastes are rich in polyphenols [26]. Polyphenols could be oxidized to polyquinones by dichromate [32], according to the proposed mechanism given in Scheme 1.

The biosorption process occurred at low pH value (pH 2.0) because in the oxidation step of polyphenols, H⁺ ions were consumed [32]. The polyquinone formed in the first step formed a complex with the Cr³⁺.



Scheme 1. Chromium(VI) uptake by pinhão wastes.

The chromium uptake by the pinhão wastes could only be destroyed by the presence of H₂O₂ in basic medium [31]. However, large amounts of 3.0 mol l⁻¹ H₂O₂ at pH 10.0 passing through the loaded Cr(VI) pinhão wastes present in the column provoked a disruption of the material.

In order to find a new applications to Cr(VI) loaded pinhão wastes, experiments of adsorption of textile-dyes on this new waste material are in progress in the authors' laboratory.

3.5. Comparison of pinhão wastes as biosorbent for Cr(VI) uptake with other biosorbents

In Table 10 is presented a comparison of several biosorbents employed for Cr(VI) uptake. As can be seen, pinhão wastes is a very good biosorbent for Cr(VI) removal from aqueous solution, presenting adsorption capacity compared with activated carbon and modified chitosan.

3.6. Breakthrough curve of Cr(VI) using pinhão wastes as biosorbent

In order to evaluate pinhão wastes as a biosorbent for wastewater treatment of Cr(VI) containing effluents, a breakthrough curve of Cr(VI) using pinhão wastes as biosorbent was obtained (Fig. 5). As can be seen, the breakthrough point, determined when the Cr(VI) effluent from column attained the level of 0.050 mg l⁻¹ (which corresponds to the maximum allowed Cr concentration in natural waters [1]), corresponds to a bed volume of 252.3 (bed volume is the ratio of effluent volume/biosorbent volume). This was a very good value of attained breakpoint for a biosorbent in a dynamic system, since 1 volume of biosorbent (22.0 ml) was able to remove Cr(VI) completely from a 252.3 higher volume (5550 ml) of aqueous solution. It should be mentioned that the amount of Cr(VI) removed (5550 ml of 25.0 mg l⁻¹ Cr(VI) solution) completely from aqueous solution at the breakpoint corresponded to an amount of 138.75 mg of the metallic ion. Considering that this amount was uptaken by 4.00 g of biosorbent, the breakpoint capacity of pinhão wastes to remove Cr(VI) completely from aqueous solution was 34.7 mg metallic ion/g pinhão wastes using a flow-rate of 2.5 ml min⁻¹. Of course, at other flow-rates this breakpoint capacity achieved in a dynamic system would change.

Table 10
Comparison of different biosorbents for Cr(VI) uptake

Biosorbent	Characteristic	q_{\max} (mg g ⁻¹)	Reference
Coconut shell charcoal	Biosorbent treated with HNO ₃	10.88	[8]
Coconut shell charcoal	Biosorbent treated with H ₂ SO ₄	4.05	[8]
Coconut shell charcoal	Without treatment	2.18	[8]
<i>Neurospora crassa</i> —fungal biomass	Biomass treated with acetic acid	15.85	[9]
<i>Chryseomonas luteola</i> bacteria	Bacteria isolated from wastewater treatment of petrochemical industry	3.0	[10]
Hazelnut shell	Biosorbent treated with H ₂ SO ₄	17.7	[14]
<i>Pinus sylvestris</i> cone biomass	400 mesh powder	201.8	[15]
Sugar beet pulp	Composite of biosorbent with FeOH ₃	5.12	[16]
Sawdust	Adsorption capacity in column	0.893	[17]
Rice husks	Adsorption capacity in column	0.634	[17]
Coirpith	Adsorption capacity in column	1.204	[17]
Turkish coffee	–	1.63	[18]
Walnut shell	–	1.33	[18]
Waste tea	–	1.55	[18]
Chitosan	–	27.3	[18]
Rice hulls	–	164.31	[18]
Irish sphagnum moss peat	–	43.9	[18]
Bagasse fly ash	–	260	[19]
Sawdust	–	2.29	[19]
Activated carbon (GAC) Filtrasorb 400	–	145	[19]
Chitosan	Modified chitosan	153.8	[20]
Waste crab shell	Treated with HCl	28.1	[21]
Mucilaginous seeds	Seeds treated with water	205.0	[22]
Grape stalks	Particle size 1.0–1.5 mm	59.8	[23]
<i>Yohimbe</i> bark	Particle size 1.0–1.5 mm	42.5	[23]
Cork	Particle size 1.0–1.5 mm	0.022	[23]
Olive stones	Particle size 1.0–1.5 mm	0.012	[23]
<i>Auracaria angustifolia</i> wastes	Treatment with water boiling	125.0	This work

It should be stressed that the maximum amount of metallic ion uptake by the biosorbent (q_{\max}) obtained in the batch experiments is different from breakpoint capacity of the biosorbent obtained under dynamic situation. The first parameter was always measured with non-retained metallic ion by the biosorbent (see Eq. (2)); on the other hand, the breakpoint was measured when the first amount of the metallic ion attains its

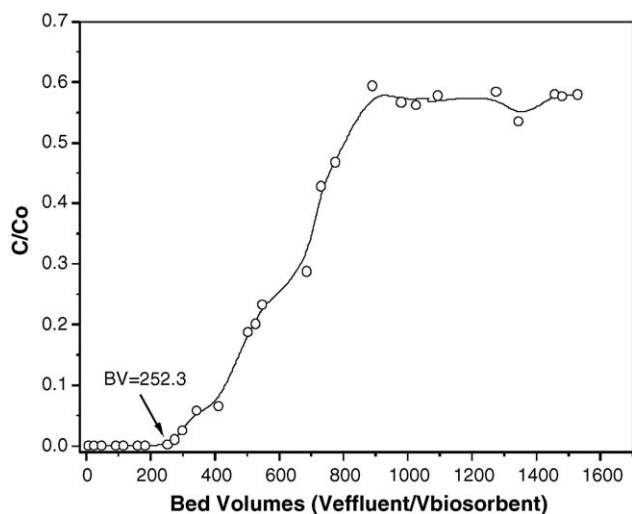


Fig. 5. Breakthrough curves for Cr(VI) removal from aqueous solution using pinhão wastes as biosorbent. Bed volume 22.0 ml, flow-rate 2.5 ml min⁻¹ and column volume 250 ml.

maximum allowed concentration that could be disposed into the environment.

In addition, observing the breakthrough curve for Cr(VI) removal from aqueous solution (Fig. 5), it was observed that at a bed volume of 888.64 (effluent volume of 19,550 ml), the ratio C/C_0 was leveled to an average of 0.57. Considering a volume of 19,550 ml of 25.0 mg l⁻¹ Cr it corresponds to an amount of 488.75 mg Cr(VI) uptake by 4.00 g of pinhão wastes which corresponds to 122.2 mg Cr(VI) uptake/g of the biosorbent. This value is close to the maximum amount of Cr(VI) uptake in the batch system ($q_{\max} = 125.0$ mg g⁻¹).

4. Conclusion

A 100.0 mg l⁻¹ solution of Cr(VI) was completely removed from aqueous solution by pinhão wastes (5.0 g l⁻¹) in just 30 min.

In order to achieve the best conditions for Cr(VI) uptake by pinhão wastes, a full 2⁴ factorial design was employed for screening the factors that would influence on the overall optimization of a batch procedure of biosorption. This optimization has shown that the best initial conditions were: pH 2.0, initial concentration (C_0) Cr(VI) of at least 600.0 mg l⁻¹, biosorbent concentration (X) of at least 2.50 g l⁻¹ and agitation time (t) of at least 8.0 h. Based on these results, a Box–Behnken surface response design was carried out, investigating other limits of the previous values attained with the full factorial design, and

the best conditions for Cr(VI) uptake by pinhão wastes were: pH 2.0, $C_0 = 1200.0 \text{ mg l}^{-1}$, $X = 1.50 \text{ g l}^{-1}$ and $t = 8 \text{ h}$. In order to verify if anions such as Cl^- , NO_3^- and PO_4^{3-} would interfere on Cr(VI) uptake by pinhão wastes, a new Box–Behnken surface response design was carried out, where different levels of these anions were tested, using the best conditions for Cr(VI) uptake by the pinhão wastes. The results showed that there is no interference of either of these anions on dichromate uptake by the biosorbent.

In order to regenerate Cr(VI) loaded pinhão wastes, experiments were firstly carried out with NaCl solutions (pH 8.0). These media were improper for Cr(VI) removal from the metallic ion loaded biosorbent. A new trial was performed utilizing $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{NaOH}$ which is a known media to oxidize Cr^{3+} to CrO_4^{2-} . This experiment confirmed that Cr(VI) was reduced to Cr(III) by the biosorbent and this element was retained in the pinhão wastes.

In addition, the dynamic studies of Cr(VI) removal by pinhão wastes showed that this biosorbent was a powerful and low-cost biosorbent for this metallic ion removal from aqueous solution, opening the possibility of this biosorbent to be employed in effluent treatment of tanneries or metallurgical industries that need to treat their effluents before being delivered into the environment.

Acknowledgments

The authors are grateful to Ministério de Ciência e Tecnologia (MCT), to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and to Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Propesq-UFRGS) for financial support and fellowships.

References

- [1] Toxicological Profile for Chromium, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, 2000.
- [2] M.X. Loukidou, T.D. Karapantsios, A.I. Zouboulis, K.A. Matis, Diffusion kinetic study of chromium(VI) biosorption by *Aeromonas caviae*, *Ind. Eng. Chem. Res.* 43 (2004) 1748–1755.
- [3] N.N. Brito, J.E.S. Paterniani, P.P. Zamora, A.L. Oliveira, A. De Battistini, R.T. Pelegrini, Alguns métodos de tratamento para efluentes industriais visando a minimização dos impactos ambientais, in: IV Fórum de Estudos Contábeis, Rio Claro-SP, 2004, pp. 1–7.
- [4] C.E. Harland, *Ion Exchange Theory and Practice*, second ed., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1994, p. 285.
- [5] V.S. Soldatov, A.A. Shunkevich, I.S. Elison, H. Iraushek, Chemically active textile materials as efficient means for water purification, *Desalination* 124 (1999) 181–192.
- [6] S.M. Corvalan, I. Ortiz, A.M. Eliceche, Optimal design of membrane processes for wastewater treatment and metal recovery, *Comput. Chem. Eng.* 28 (2004) 103–109.
- [7] D.O. Cooney, *Adsorption Design for Wastewater Treatment*, Lewis Publishers, Boca Raton, 1999, p. 189.
- [8] S. Babel, T.A. Kurniawan, Cr(VI) removal from synthetic wastewater using coconut shell charcoal and commercial activated carbon modified with oxidizing agents and/or chitosan, *Chemosphere* 54 (2004) 951–967.
- [9] S. Tunali, I. Kiran, T. Akar, Chromium(VI) biosorption characteristics of *Neurospora crassa* fungal biomass, *Miner. Eng.* 18 (2005) 681–689.
- [10] G. Ozdemir, S.H. Baysal, Chromium and aluminum biosorption on *Chryseomonas luteola* TEM 05, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64 (2004) 599–603.
- [11] M.E.R. Carmona, M.A.P. da Silva, S.G.F. Leite, Biosorption of chromium using factorial experimental design, *Process Biochem.* 40 (2005) 779–788.
- [12] A. Bingol, H. Uzun, Y.K. Bayhan, A. Karagunduz, A. Cakici, B. Keskinler, Removal of chromate anions from aqueous stream by a cationic surfactant-modified yeast, *Bioresour. Technol.* 94 (2004) 245–249.
- [13] Y. Sahim, A. Öztürk, Biosorption of chromium(VI) ions from aqueous solution by the bacterium *Bacillus thuringiensis*, *Process Biochem.* 40 (2005) 1895–1901.
- [14] G. Cimino, A. Passerini, G. Toscano, Removal of toxic cations and Cr(VI) from aqueous solution by hazelnut shell, *Water Res.* 34 (2000) 2955–2962.
- [15] H. Uzun, Y.K. Bayhan, Y. Kaya, A. Cakici, O.F. Algur, Biosorption of chromium(VI) from aqueous solution by cone biomass of *Pinus sylvestris*, *Bioresour. Technol.* 85 (2002) 155–158.
- [16] H.S. Altundogan, Cr(VI) removal from aqueous solution by iron(III) hydroxide-loaded sugar beet pulp, *Process Biochem.* 40 (2005) 1443–1452.
- [17] K.M.S. Sumathi, S. Mahimairaja, R. Naidu, Use of low-cost biological wastes and vermiculite for removal of chromium from tannery effluent, *Bioresour. Technol.* 96 (2005) 309–316.
- [18] S.E. Bailey, T.J. Olin, M. Bricka, D. Adrian, A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals, *Water Res.* 33 (1999) 2469–2479.
- [19] S. Babel, T.A. Kurniawan, Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review, *J. Hazard. Mater. B* 97 (2003) 219–243.
- [20] V.M. Boddu, K. Abburi, J.L. Talbott, E.D. Smith, Removal of hexavalent chromium from wastewater using a new composite chitosan biosorbent, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 4449–4456.
- [21] H. Niu, B. Volesky, Characteristics of anionic metal species biosorption with waste crab shells, *Hydrometallurgy* 71 (2003) 209–215.
- [22] J.S. Melo, S.F. D'Souza, Removal of chromium by mucilaginous seeds of *Ocimum basilicum*, *Bioresour. Technol.* 92 (2004) 151–155.
- [23] N. Fiol, I. Villaescusa, M. Martínez, N. Miralles, J. Poch, J. Serarols, Biosorption of Cr(VI) using low cost sorbents, *Environ. Chem. Lett.* 1 (2003) 135–139.
- [24] S. Babel, T.A. Kurniawan, Cr(VI) removal from synthetic wastewater using coconut shell charcoal and commercial activated carbon modified with oxidizing agents and/or chitosan, *Chemosphere* 54 (2004) 951–967.
- [25] J.R. Mattos, *O Pinheiro Brasileiro*, vol. 1, 2a ed., Globo, Lages, 1994, p. 660.
- [26] B.R. Cordenunsi, E.W. de Menezes, M.I. Genovese, C. Colli, A.G. de Souza, F.M. Lajolo, Chemical composition and glycemic index of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 3412–3416.
- [27] E.A.G. Zagatto, A.O. Jacintho, B.F. Reis, F.J. Krug, H. Bergamin-Filho, L.C.R. Pessenda, J. Mortatti, M.F. Giné, *Manual de Análises de Plantas e Águas empregando sistemas de injeção em fluxo*, Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba-SP, 1981, p. 45.
- [28] D.C. Montgomery, *Design and Analysis of Experiments*, fifth ed., John Wiley & Sons, New York, 2001.
- [29] G.E.P. Box, W.G. Hunter, J.S. Hunter, *Statistics for Experimenters—An Introduction to Design, Data Analysis and Model Building*, John Wiley & Sons, New York, 1978.
- [30] J.L. Brasil, L.C. Martins, R.R. Ev, J. Dupont, S.L.P. Dias, J.A.A. Sales, C. Airoldi, E.C. Lima, Factorial design for optimization of flow-injection preconcentration procedure for copper(II) determination in natural waters, using 2-aminomethylpyridine grafted silica gel as adsorbent and spectrophotometric detection, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 15 (2005) 475–491.
- [31] A.I. Vogel, *Química Analítica Qualitativa*, Editora Mestre Jou, São Paulo-SP, 1981, p. 283.
- [32] J.D. Roberts, M.C. Caserio, *Basic Principles of Organic Chemistry*, second ed., W.A. Benjamin, 1977, p. 1301.

PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO DE EXPERIMENTOS COMO UMA FERRAMENTA PARA OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE BIORSORÇÃO DE Cu(II) EM BATELADA UTILIZANDO-SE CASCA DE NOZES PECÃ COMO BIORSORVENTE**Jorge L. Brasil, Júlio C. P. Vaghetti, Betina Royer, Araci A. dos Santos Jr., Nathalia M. Simon, Flávio A. Pavan, Silvio L. P. Dias e Eder C. Lima***

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, CP 15003, 91501-970 Porto Alegre – RS, Brasil

Recebido em 27/1/06; aceito em 24/8/06; publicado na web em 19/1/07

STATISTICAL DESIGN OF EXPERIMENTS AS A TOOL FOR OPTIMIZING THE BATCH CONDITIONS OF Cu(II) BIOSORPTION USING PECAN NUTSHELLS AS BIOSORBENT. In order to reduce the total number of experiments for achieving the highest amount of adsorbed Cu²⁺ (q_{max}) using pecan nutshells (*Carya illinoensis*) as biosorbent, a full 2⁴ factorial design with two central points was carried out (mass of biosorbent- m, pH, initial metallic ion concentration- C₀, time of contact- t). In order to continue the optimization of the system, a central composite surface analysis design with two factors and five central points was carried out. The maximum amount of Cu²⁺ taken up by the pecan nutshells was 20 mg g⁻¹. These results were confirmed by determining a Cu²⁺ isotherm using the best conditions attained by the statistical design of experiments.

Keywords: biosorption; statistical design of experiments; *Carya illinoensis*.**INTRODUÇÃO**

A atividade industrial é responsável por gerar um volume muito grande de resíduos contendo diversas espécies nocivas à saúde humana¹. Estes resíduos tóxicos necessitam ser tratados antes de serem despejados em águas naturais. Entre as espécies de maior relevância toxicológica presentes nos resíduos industriais estão os metais pesados e ametais, que não se biodegradam pela ação do tempo, sendo bioacumulativos². Os procedimentos de tratamento de efluentes industriais visando a remoção de metais pesados são os processos químicos e físicos¹⁻³.

Processos químicos são geralmente variados e dependem da natureza do efluente. As principais desvantagens destes procedimentos é que são dispendiosos, requerem uso de reagente químico e podem propiciar a formação de outra espécie tóxica no efluente tratado. Os procedimentos mais empregados são: neutralização ácido-base, cloração, precipitação química, complexação com agentes quelantes, eletrólise e métodos oxidativos com oxigênio e ozônio^{1,2}.

Processos físicos, geralmente, são procedimentos mais simples, utilizando uma determinada operação unitária, tal como^{1,3}: separação de fases para remoção do material sólido (decantação, sedimentação, filtração, centrifugação, flotação)^{1,4}; transição de uma forma física à outra (destilação, evaporação, precipitação física, cristalização)¹; utilização de membranas seletivas às espécies tóxicas, para hiperfiltração, ultrafiltração, osmose reversa e diálise⁵; extração em fase sólida, utilizando adsorventes capazes de reter seletivamente as espécies de maior toxicidade⁶. Este procedimento geralmente é utilizado no final do tratamento de efluentes industriais, permitindo reduzir a um valor mínimo o nível da espécie tóxica presente. Tal procedimento envolve desde a simples passagem de um efluente por um meio granular, como areia¹ ou carvão ativado⁶, que retém as espécies tóxicas por fisissorção, até o emprego de adsorventes sintéticos, tais como resinas poliméricas de troca iônica⁷, tecidos modificados quimicamente com grupamentos orgânicos^{8,9}, sílica gel modificada¹⁰⁻¹⁴, que são capazes de reter sele-

tivamente metais pesados por quelação, troca iônica ou micro-precipitação na superfície do adsorvente¹⁰⁻¹⁴.

Dentre todos os processos de tratamento de efluentes industriais citados, a extração em fase sólida é um dos procedimentos ecologicamente mais corretos, porque os íons metálicos são removidos por uma fase sólida. Este adsorvente pode ser regenerado posteriormente ou mantido em um local seco, sem contato direto com o ambiente. Entretanto, os adsorventes sintéticos (resinas poliméricas, sílicas organofuncionalizadas, tecidos modificados com grupamentos orgânicos) são de alto custo, fato que impossibilita sua aplicação em larga escala em tratamento de efluentes⁷⁻¹⁴.

Carvão ativado tem sido o adsorvente mais popular e largamente utilizado no tratamento de efluentes⁶. Apesar de seu uso extensivo, o carvão ativado de alta qualidade permanece dispendioso¹⁵. Além desta desvantagem, o carvão ativado requer uso de agentes complexantes para remoção de espécies inorgânicas, tornando o procedimento ainda mais oneroso.

Devido ao alto custo dos adsorventes, há um crescente interesse na produção de materiais de baixo custo, com capacidade de remoção de metais pesados de águas. Estes adsorventes devem estar disponíveis em grandes quantidades (pelo menos nas proximidades do local a ser aplicado) e apresentar custo reduzido. Entre eles destacam-se: quitosana¹⁵⁻¹⁷; argilas¹⁵; zeólitas^{15,18}; certos subprodutos industriais tais como, cinzas^{15,19}; óxidos metálicos e lã de aço^{15,20}; resíduos manufaturados de óleos comestíveis²¹⁻²³; carvão vegetal e mineral^{15,24}; solos contendo grandes quantidades de matéria orgânica oriunda da decomposição de vegetais^{15,25,26}; resíduos agrícolas, tais como casca de arroz^{15,26-28} e de coco^{15,28}, resíduos de café e chá²⁹, farelo³⁰ e casca de trigo³¹, sementes mucilaginosas³²; serragem de madeira^{26,33}; cascas e copas de árvore^{15,26,33,34}; materiais ricos em taninos²⁶; cortiça³⁵; gramíneas³⁶; xantato²⁶; cactus³⁷; musgos³⁸; algas marinhas³⁹ e seus derivados⁴⁰.

Nas regiões sul e sudeste do Brasil, encontram-se extensas plantações da noqueira-pecã, a qual foi introduzida pelos imigrantes norte-americanos. A noqueira-pecã (*Carya illinoensis*) pertence à família *Junlandaceae*⁴¹. É uma árvore de folhas caducas, que pode atingir grande porte, superando 40 m de altura, 40 m de diâmetro

*e-mail: ederlima@iq.ufrgs.br

de copa e 20 m de circunferência de tronco⁴¹. A longevidade pode superar 200 anos⁴¹.

A casca da noz pecã é um subproduto de cor avermelhada intensa, de difícil degradação. Dessa forma, torna-se necessário encontrar uma utilidade para esse subproduto, que nesse trabalho foi explorado como biossorvente para remoção de íons Cu(II) de soluções aquosas, utilizando-se planejamento estatístico de experimentos para otimizar as condições de biossorção em batelada.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparação do biossorvente

Nozes pecã (*Carya illinoensis*) foram adquiridas em mercado local, em Porto Alegre-RS. O peso de cada semente variou entre 7 a 11 g. A casca corresponde a aproximadamente 49% de toda a castanha. Aproximadamente 500 g de casca de noz pecã foram lavadas com água destilada e fervidas com 6,0 L de água por um período de 2 h para se eliminar a maior parte dos compostos solúveis em água. Posteriormente as cascas foram secas a 70 °C por 8 h, em estufa provida de ar quente. Após, a casca de noz foi moída em moinho de disco e, subsequentemente, peneirada. A fração com diâmetro de partículas inferior a 250 µm foi utilizada. A densidade aparente da casca de noz pecã encontrada foi de 1,30 g cm⁻³.

Reagentes e soluções

Água deionizada foi empregada em todo o trabalho.

A solução estoque de 5000,0 mg L⁻¹ Cu²⁺ foi preparada dissolvendo-se 9,8228 g de CuSO₄·5H₂O (Vetec, Rio de Janeiro-RJ) em água e completando-se o volume final até 500,0 mL. Soluções de trabalho de Cu²⁺ com concentrações variando de 5,00 a 1000,0 mg L⁻¹ foram preparadas por diluição serial da solução estoque. O ajuste de pH das soluções foi feito com alíquotas de soluções de HNO₃ e NaOH 1,0 mol L⁻¹, utilizando um pHmetro portátil handylab 1 Schott (Mainz, Alemanha) provido de eletrodo combinado de vidro, modelo Blue-Line 23.

A solução do agente cromogênico 0,15% m/v de dietilditio-carbamato de sódio (DDTC; Merck, Darmstadt-Alemanha) foi preparada diariamente dissolvendo-se 0,375 g de DDTC em 5 mL de etanol e após, esta solução foi misturada com 150 mL de água quente (≈70-80 °C), filtrada e completada a 250,0 mL em balão volumétrico.

Para preparo da solução tampão foi empregado tetraborato de sódio decaidratado (Vetec, Rio de Janeiro-RJ, Brasil).

Procedimento de biossorção em batelada de Cu²⁺

Alíquotas de 20,00 mL de solução de Cu²⁺ com concentrações variando entre 5,00-1000,0 mg L⁻¹ foram adicionadas em frascos plásticos cônicos (117 mm altura, 30 mm diâmetro) contendo 30,0–50,0 mg de casca de noz pecã moída. Os frascos foram tampados, colocados em agitador horizontal e agitados por 1 a 4 h. Após, os frascos foram destampados e a fase líquida foi separada por filtração utilizando-se filtro de papel Whatman. Quando necessário, alíquotas de 1-10 mL das soluções do sobrenadante foram propriamente diluídas entre 50-100 mL em balões volumétricos utilizando água. As soluções finais de Cu²⁺ foram determinadas espectrofotometricamente utilizando-se DDTC a 460 nm¹³, em sistema de análise em fluxo, após multiplicar o valor da concentração da solução medida, depois do procedimento de biossorção, pelo fator de diluição apropriado.

A quantidade de Cu²⁺ biossorvida pela casca de noz pecã é dada pela Equação 1.

$$q = \frac{(C_o - C_f) \cdot V}{m} \quad (1)$$

na qual, q é a quantidade biossorvida do íon metálico pelo biossorvente (mg g⁻¹); C_o é a concentração inicial de Cu²⁺ colocada em contato com o biossorvente (mg L⁻¹), C_f é a concentração final de Cu²⁺ (mg L⁻¹) após o procedimento de biossorção em batelada, m é a massa do biossorvente (g) e V é o volume da solução do íon metálico colocada em contato com o biossorvente (l).

Determinação de Cu²⁺

Para determinação de Cu²⁺ nas amostras, foi empregado⁴² um injetor-comutador proporcional feito em acrílico, contendo uma seção 2:3:2 para adaptação da alça de amostragem e uma seção 0:1:2 para introdução do agente cromogênico intermitentemente. A parte central do injetor é móvel e suas laterais são fixas⁴². Também foram utilizadas duas bombas peristálticas (Milan, Colombo-PR), linhas de transmissão de 0,8 mm de d.i., conectores em acrílico, célula em fluxo (150 µL) e espectrofotômetro (Femto 600S, São Paulo-SP) como apresentados na Figura 1. Na posição de amostragem (Figura 1a), a solução da amostra S (5-30 mg L⁻¹ Cu²⁺; 4,0 mL min⁻¹) preenche a alça de amostragem L_s (125 µL) e seu excesso é direcionado ao descarte da solução da amostra (W_s); o reagente cromogênico (0,15% m/v DDTC; 2,5 mL min⁻¹) R₁ está sendo bombeado para seu frasco de regeneração Reg₁. Em um segundo canal, a solução transportadora C_s (0,1 mol L⁻¹ HNO₃; 2,6 mL min⁻¹) está sendo bombeada para o sistema, onde no ponto de confluência Y se mistura com a solução tampão B₂ (0,5 mol L⁻¹ tampão acetato, pH 5,5; a 2,6 mL min⁻¹) e a mistura ocorre na bobina de reação C₂ (100 µL); então, a zona da amostra tamponada alcança o ponto de confluência Z e, subsequentemente, esta zona alcança a bobina de mistura C₃ (200 µL); a zona da amostra passa, en-

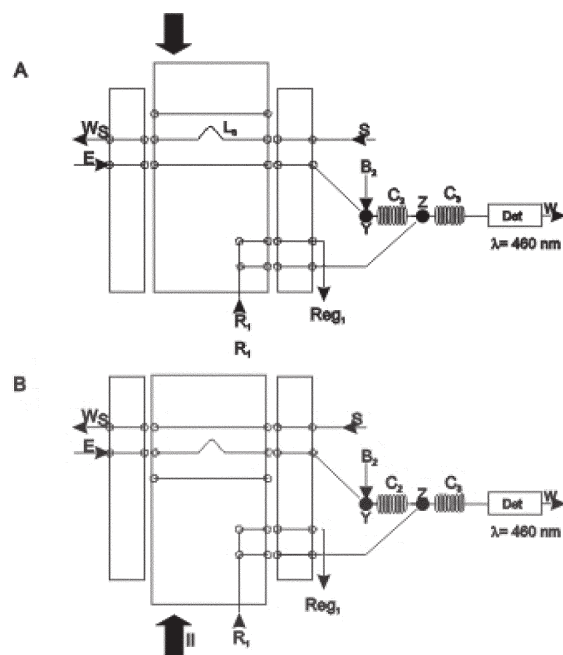


Figura 1. Diagrama de fluxo para determinação de Cu²⁺ usando DDTC. S- solução da amostra; L_s- alça de amostragem (375 µL); W_s- descarte da solução da amostra; E- solução transportadora- 0,5 mol L⁻¹ HNO₃; R₁- 0,15% m/v DDTC, Reg₁- frasco de regeneração do agente cromogênico, B₂- solução tampão borato pH 9,0, C₂ e C₃ bobinas de reação com 100 e 200 µL, respectivamente; Y e Z- pontos de confluência, Det- célula em fluxo colocada em espectrofotômetro; W- descarte

tão, pela célula em fluxo (150 μL) do espectrofotômetro (460 nm) produzindo a linha de base e, subseqüentemente, sendo direcionada ao descarte (W). Na posição de injeção (Figura 1b), a alça de amostragem Ls é inserida no fluxo da solução transportadora Cs que direciona a zona da amostra para o ponto de confluência Y, onde esta se mistura com a solução tampão B₂ e é misturada na bobina C₂; a zona da amostra tamponada alcança o ponto de confluência Z, onde se mistura com o reagente cromogênico e, então, a zona da reação é misturada na bobina C₃ (200 μL) formando o complexo Cu(DDTC)₂¹³. Esta zona é subseqüentemente direcionada à célula em fluxo do espectrofotômetro (460 nm), produzindo um sinal transiente e, finalmente, é direcionada ao descarte (W).

Planejamento estatístico de experimentos

Planejamento fatorial completo com ponto central

Planejamento fatorial é empregado para se obter as melhores condições operacionais de um sistema sob estudo, realizando-se um número menor de experimentos quando comparado com o processo univariado de otimização do processo⁴³⁻⁵³. O planejamento fatorial determina que fatores têm efeitos relevantes na resposta e, também, como o efeito de um fator varia com os níveis dos outros fatores. Também, o planejamento fatorial permite medir as interações entre diferentes fatores. Essas interações são a principal componente de muitos processos de otimização. Sem o uso de planejamentos fatoriais de experimentos, importantes interações de fatores não são detectadas e a otimização máxima do sistema pode levar mais tempo para ser alcançada⁴³⁻⁵³.

Para estudar a bioadsorção de cobre (II) em cascas de nozes pecã, a quantidade adsorvida do íon metálico (q) pode depender da massa do bioadsorvente (m), da acidez do meio (pH), do tempo de contato entre o íon metálico e o bioadsorvente (t) e da concentração inicial de cobre(II) (Co). Outras variáveis foram investigadas, tais como velocidade de

agitação mantida constante em 120 rpm) e temperatura (fixada em 25 °C). O planejamento fatorial completo 2⁴ é apresentado na Tabela 1. Os níveis dos fatores foram codificados como -1 (baixo), 0 (ponto central) e 1 (alto)⁴³. Para tratamento dos dados, o programa estatístico Minitab Statistical Software versão 14.12.0 foi empregado para obtenção dos efeitos, coeficientes e desvio padrão dos coeficientes, gráficos dos efeitos padronizados, gráfico de pareto e as superfícies de respostas e de outros parâmetros estatísticos dos modelos ajustados.

Análise de superfície de respostas empregando planejamento composto central

Métodos de superfícies de respostas são utilizados para examinar as relações entre uma ou mais variáveis e um conjunto quantitativo de fatores experimentais. Esses métodos estatísticos são empregados após uma triagem dos fatores importantes, que geralmente é realizada previamente por um planejamento fatorial. Após isso, é preciso encontrar um dos níveis de fatores que otimizam a resposta⁴³.

Após realizar uma triagem dos fatores com o planejamento fatorial, uma análise de superfície de resposta empregando planejamento composto central⁴³ foi realizada para se obter a máxima quantidade adsorvida do íon metálico. O planejamento dos experimentos realizados é apresentado na Tabela 2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Triagem dos fatores para bioadsorção de Cu(II) em casca de nozes pecã

A bioadsorção de um íon metálico por um bioadsorvente em um sistema em batelada geralmente depende de vários fatores, tais como massa do bioadsorvente (m), acidez do meio (pH), tempo de contato entre o íon metálico e o bioadsorvente (t), concentração inicial do íon

Tabela 1. Otimização da bioadsorção de cobre(II) em cascas de nozes pecã. Planejamento fatorial completo 2⁴ com dois pontos centrais. O valor de q (mg g⁻¹) corresponde ao valor experimental e q_{modelo} corresponde ao valor ajustado pelo modelo. A diferença entre o q experimental e o q_{modelo} é o resíduo de cada ponto

Experimento	M	pH	t	Co	q (mg g ⁻¹)	q _{modelo}
1	-1	-1	-1	-1	0,604	0,604
2	1	-1	-1	-1	0,447	0,447
3	-1	1	-1	-1	4,866	4,866
4	1	1	-1	-1	2,771	2,771
5	-1	-1	1	-1	0,611	0,611
6	1	-1	1	-1	0,495	0,495
7	-1	1	1	-1	4,719	4,719
8	1	1	1	-1	2,556	2,556
9	-1	-1	-1	1	1,168	1,168
10	1	-1	-1	1	0,694	0,694
11	-1	1	-1	1	8,878	8,878
12	1	1	-1	1	6,106	6,106
13	-1	-1	1	1	1,218	1,218
14	1	-1	1	1	0,810	0,810
15	-1	1	1	1	8,694	8,694
16	1	1	1	1	5,756	5,756
17	0	0	0	0	3,423	-
18	0	0	0	0	3,274	-

Níveis

Fatores	-1	0	1
m (g)	30,0	40,0	50,0
pH	2,0	4,0	6,0
t (h)	1,0	2,5	4,0
Co (mg L ⁻¹)	10,0	15,0	20,0

Tabela 2. Otimização da biossorção de cobre(II) em cascas de nozes pecã. Análise de superfície de resposta empregando planejamento composto central contendo 13 experimentos e 2 fatores (pH, Co). O tempo foi fixado em 2,5 h e a massa do biossorvente em 30,0 mg

Experimentos	pH	Co	q (mg g ⁻¹)
1	-1	-1	7,647
2	1	-1	15,56
3	-1	1	15,561
4	1	1	10,085
5	-1	0	7,981
6	1	0	6,819
7	0	-1	15,557
8	0	1	9,079
9	0	0	10,173
10	0	0	9,88
11	0	0	10,477
12	0	0	9,115
13	0	0	7,647

	Níveis		
Fatores	-1	0	1
pH	5,0	6,0	7,0
Co (mg L ⁻¹)	20,0	35,0	50,0

metálico (Co), velocidade de agitação, etc. A otimização de todas essas variáveis utilizando-se o procedimento univariado é muito entediante, porque para qualquer variável (fator) que é otimizada é necessário variar um fator por vez, fixando-se todos os demais. Então, o melhor valor obtido para esse fator é fixado e os outros fatores vão ser otimizados seqüencialmente, um a um. A desvantagem do procedimento univariado é que a melhor condição pode não ser atingida, porque as interações entre os fatores são negligenciadas e, como não se tem certeza do conjunto das outras variáveis que foram mantidas constantes, ou seja, se fossem fixadas previamente em outros valores, se os resultados iriam levar à mesma otimização do sistema. Além disso, o número total de experimentos a serem realizados no procedimento univariado é muito maior, quando comparado com o planejamento estatísticos de experimentos.

Na Figura 2a é apresentada a curva da distribuição de probabilidade normalizada para os efeitos padronizados, para-se avaliar cada fator e suas interações no processo de biossorção de Cu(II) utilizando casca de noz pecã como biossorvente. Este gráfico pode ser dividido em duas regiões, a com porcentagem inferior a 50%, onde os fatores e interações apresentam coeficientes negativos (m, m.pH) e a região com porcentagem acima de 50%, onde os fatores e as interações apresentam coeficientes positivos (pH, Co, pH.Co).

Todos os fatores e interações que são representados por um quadrado foram significativos e esses se localizam fora da linha central que cruza o valor zero na abscissa em probabilidade de 50%. Os efeitos posicionados nessa linha foram representados por um círculo e correspondem à estimativa dos erros dos efeitos, não sendo significativos (t, m.t, m.Co, pH.t, t.Co, m.pH.t, m.pH.Co, m.t.Co, pH.t.Co, m.pH.t.Co).

Na Figura 2b é apresentado o gráfico de Pareto dos efeitos padronizados em $p = 0,05$. Todos os efeitos padronizados estão em valores absolutos (para verificar quais são positivos e quais são negativos, ver Figura 2a). Todos os efeitos que apresentaram valores maiores que 12,7 ($p = 0,05$), que se localizam à direita da linha tracejada, foram significativos. Os valores absolutos padronizados dos efeitos de cada fator e das interações aparecem à direita de cada barra.

Analisando-se os gráficos da Figura 2, pode ser inferido que o pH foi a variável mais importante do processo global da biossorção

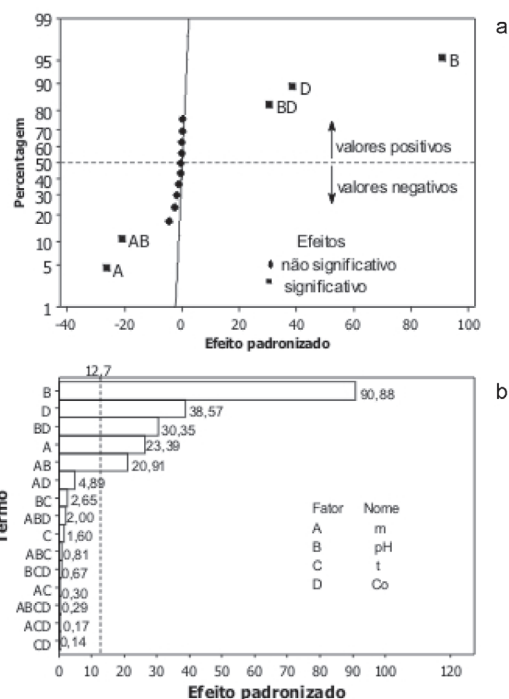


Figura 2. a- Probabilidade normal dos efeitos padronizados em $p = 0,05$. A linha tracejada em 50% de probabilidade divide os efeitos negativos dos positivos; b- Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados em $p = 0,05$

de Cu(II). O valor positivo de seu coeficiente significou que a biossorção de cobre(II) por cascas de nozes pecã foi favorecida em valores de pH próximo a 6,0. Utilizando-se esse valor de pH da solução no processo de biossorção foi observado um aumento significativo da quantidade de Cu(II) removido da solução aquosa propiciada pela cascas de nozes, como já observado previamente para outros biossorventes³⁴. Na continuação da otimização desse trabalho, para melhor avaliar a acidez da solução do íon metálico, o pH da solução será explorado a seguir em outros níveis.

O segundo fator importante na otimização do sistema de adsorção em batelada foi a concentração inicial (Co) de Cu(II). Este resultado mostrou que Co do íon metálico poderia ser aumentada, para se obter maiores respostas (q), provavelmente, porque para os níveis testados do íon metálico (Tabela 1) não foram suficientes para saturar o biossorvente. Esse fator foi posteriormente estudado na análise de superfície de respostas, aumentando-se seus níveis.

O terceiro fator importante para a otimização global do processo de biossorção foi a interação de dois fatores, pH.Co, que foi mais significativa que o fator principal, m. Somente a aquisição dessa informação, justifica o uso de planejamento estatístico de experimentos sobre o procedimento convencional de otimização univariada. Essa informação jamais teria sido obtida em uma otimização univariada do processo de biossorção. Contudo, se o sistema estivesse sendo otimizado pelo procedimento univariado, um pequeno aumento do pH da solução associado com um pequeno aumento na concentração inicial do íon metálico levaria a uma interpretação errônea dos resultados obtidos. Provavelmente, o experimentador iria refazer todas as medidas, porque seria incapaz de perceber que um pequeno aumento no valor de pH da solução associado a um pequeno aumento na concentração de Cu(II) levaria a um aumento inexplicado na biossorção do íon metálico.

O quarto fator na ordem de importância para a otimização global da biossorção de Cu(II) em cascas de nozes pecã foi a massa do biossorvente (m). Como os experimentos de biossorção foram realizados em sistema em batelada usando tubos plásticos cônicos

(117 mm altura, 30 mm diâmetro), a quantidade de biossorvente foi limitada à dimensão do tubo plástico para realizar os experimentos. Isso justifica que a menor quantidade de biomassa conduziu a um valor maior na biossorção do íon metálico (valor do coeficiente negativo). Para minimizar problemas da não homogeneidade do biossorvente para massas muito pequenas, nos próximos experimentos da análise de superfície de resposta, a massa do biossorvente foi fixada em 30,0 mg.

O quinto fator importante na otimização da biossorção foi à interação de dois fatores, m.pH.

Análise de superfícies de respostas empregando planejamento composto central

Após realizar uma triagem dos fatores utilizando o planejamento fatorial completo 2⁴, uma análise de superfície de resposta empregando planejamento composto central foi realizada de acordo com os experimentos descritos na Tabela 2 (n = 13), para se obter a máxima biossorção de Cu(II) (q) pelas cascas de nozes pecã. Os níveis dos fatores escolhidos foram ajustados, baseados nos experimentos prévios de planejamento fatorial descritos acima, usando tempos de contato de 2,5 h. O efeito do tempo de contato entre biossorbatos e biossorvente de fato não foi significativo, de acordo com os dados da Figura 2. Entretanto a concentração inicial (Co) do biossorbatos empregada naquele planejamento foi de apenas no máximo 20,0 mg L⁻¹. Como se espera que a saturação do biossorvente ocorra para concentrações superiores a esse valor, é possível que apenas 1 h de contato entre biossorbatos e biossorvente não seja suficiente para alcançar o equilíbrio.

Na Figura 3a é mostrada a superfície de resposta da quantidade de cobre(II) biossorvida (q) em função da Co e pH. Como pode ser claramente observado, a concentração de cobre (II) não atingiu um máximo, indicando, provavelmente, que a quantidade do íon metálico não foi suficiente para saturar o biossorvente. Foi observado que o pH entre 5,0 a 7,0 não apresentou efeito significativo na biossorção de Cu(II). Na Figura 3b é apresentada a curva de contorno da resposta (q) para concentração inicial de Cu(II) versus pH da solução. A maior biossorção do íon metálico pelas cascas de nozes pecã ocorreu em maiores concentrações iniciais de cobre(II) independente da faixa de pH, confirmando os dados da Figura 3a.

Na Tabela 3 é apresentada a análise de regressão da superfície de resposta para a biossorção de Cu(II) em cascas de nozes pecã. Apenas Co e Co² foram significativas (p < 0,05). Todos os demais fatores não foram significativos, pois apresentaram probabilidade maior que 0,05. O coeficiente de correlação ao quadrado (R²) foi de 96,10%.

Analisando-se a Figura 3 e os dados da Tabela 3, pode-se concluir que a faixa de pH ótima para biossorção de Cu(II) em casca de nozes pecã varia entre 5,0 a 7,0. Também pode ser observado que a saturação do biossorvente não foi alcançada na faixa de concentração inicial de Cu(II) entre 20,0 a 50,0 mg L⁻¹. A quantidade biossorvida do íon metálico aumenta com a concentração inicial, podendo ser expressa pela Equação 2

$$q = 9,55252 + 3,91650Co + 2,11619Co^2. (R^2 = 96,10\%) \quad (2)$$

sendo os valores dos fatores codificados e seus níveis válidos apenas para os valores descritos na Tabela 2.

Com base nos dois planejamentos estatísticos de experimentos pode-se estabelecer as seguintes condições: a massa ideal de casca de nozes pecã para biossorção foi de 30,0 mg; a faixa de pH ideal para se obter a máxima biossorção de Cu(II) pelo biossorvente é entre 5,0 a 7,0 e, o tempo mínimo ideal de contato entre biossorvente e biossorvato é de pelo menos 2,5 h, considerando-se que a satura-

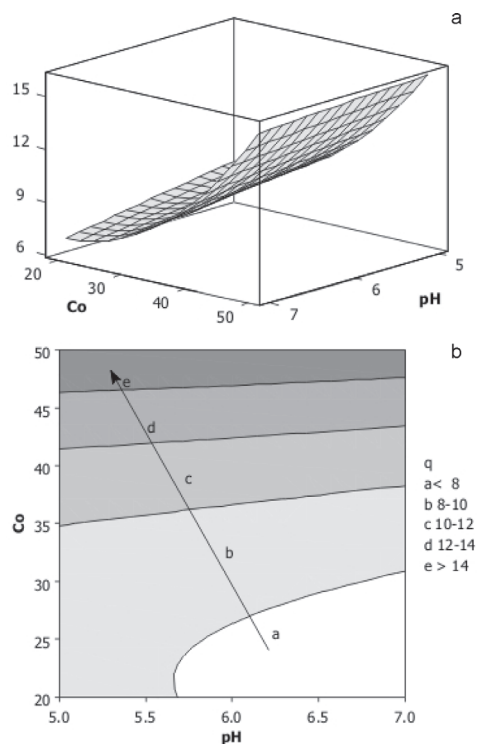


Figura 3. a- Superfície de resposta para a biossorção de Cu(II) (q) versus Co e pH; b- curvas de contorno para q. Co versus pH. As regiões das curvas de contorno são divididas em várias áreas, nas quais a resposta q é expressa em mg g⁻¹. As flechas indicam o aumento crescente em q. A Co é expressa em mg L⁻¹. O tempo de contato foi fixo em 2,5 h

Tabela 3. Análise de regressão da superfície de resposta para a biossorção de Cu(II) em casca de nozes pecã. Modelo quadrático completo

Termo	Coefficiente	SE do Coeficiente	P
Constante	9,55252	0,3275	0,000
pH	-0,52817	0,3220	0,145
Co	3,91650	0,3220	0,000
pH ²	-0,03881	0,4746	0,937
Co ²	2,11619	0,4746	0,003
pH.Co	0,26675	0,3944	0,521

S = 0,7888 R² = 96,10%

P- probabilidade, SE- erro padrão do coeficiente. Os valores dos coeficientes são dados em unidades codificadas

ção do biossorvente não ocorreu para os níveis de concentração empregados do biossorbatos.

O número total de experimentos realizados para se obterem todas essas informações foram apenas 31 (1° planejamento fatorial - 18 experimentos, 2° análise de superfície de respostas - 13 experimentos).

Isoterma de biossorção de Cu(II) utilizando casca de nozes pecã como biossorvente

Para confirmar a utilidade dos planejamentos estatísticos de experimentos, foi realizada uma isoterma de biossorção de Cu(II) utilizando cascas de nozes pecã como biossorvente, usando-se as condições otimizadas de biossorção (Figura 4). Como pode ser observada, a saturação do biossorvente ocorreu quando a quantidade biossorvida do íon metálico atingiu em torno de 20 mg g⁻¹. Somente

a informação da Figura 4 requereu 12 experimentos que correspondem a 38,7% de todos os experimentos realizados previamente.

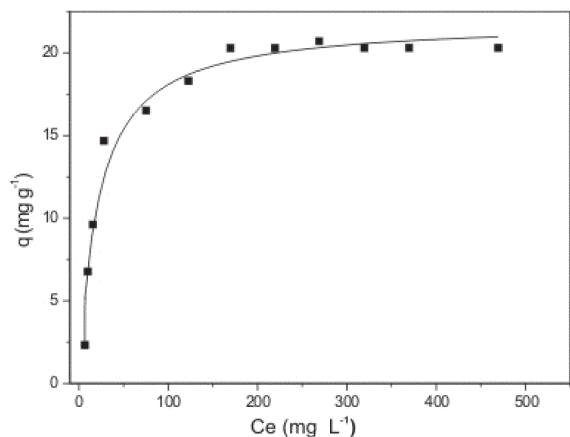


Figura 4. Isoterma de biossorção de Cu(II) em cascas de nozes pecã. As condições utilizadas foram: tempo de contato de 2,0 h; pH 6,0; massa do biossorvente 30,0 mg

CONCLUSÕES

Casca de noz pecã foi utilizada como biossorvente para remoção de íons Cu(II) de soluções aquosas. A otimização das condições de biossorção em batelada foi realizada utilizando-se dois planejamentos estatísticos de experimentos, o planejamento fatorial completo 2⁴ com dois pontos centrais (n = 18 experimentos) e para continuar a otimização do sistema foi empregada análise de superfície de respostas empregando planejamento composto central com dois fatores (n=13 experimentos). Toda a otimização do sistema foi realizada com apenas 31 experimentos.

Após a otimização das condições de biossorção em batelada, foi obtida a isoterma de biossorção de Cu(II) em casca de noz pecã, resultando em uma saturação em 20,0 mg g⁻¹ do íon metálico adsorvido.

AGRADECIMENTOS

À Pró-Reitoria de Pesquisa-UFRGS, ao Ministério de Ciência e Tecnologia (MCT), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pela concessão de recursos financeiros e bolsas de estudos.

REFERÊNCIAS

1. Brito, N. N.; Paterniani, J. E. S.; Zamora, P. P.; Oliveira, A. L.; De Battistini, A.; Pelegrini, R. T.; *IV Fórum de Estudos Contábeis*, Rio Claro, Brasil, 2004.
2. Yu, M. H.; *Environmental Toxicology: Biological and Health Effects of Pollutants*, 2nd ed., CRC Press: Boca Raton, 2005.
3. Manaham, S. E.; *Environmental Chemistry*, 7th ed., CRC Press: Boca Raton, 2000.
4. Matis, K. A.; Zouboulis, A. I.; Lazaridis, N. K.; *Water, Air, Soil Pollut.* **2003**, *3*, 143.
5. Molinari, R.; Argurio, P.; Poerio, T.; *Desalination* **2004**, *162*, 217.
6. Cooney, D. O.; *Adsorption design for wastewater treatment*, Lewis Publishers: Boca Raton, 1999.
7. Harland, C. E.; *Ion Exchange Theory and Practice*, 2nd ed., Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1994.
8. Soldatov, V. S.; Shunkevich, A. A.; Elison, I. S.; Iraushek, H.; *Desalination* **1999**, *124*, 181.

9. Lacour, S.; Serpaud, B.; Bollinger, J. C.; *Water Res.* **2004**, *38*, 4045.
10. Vaghetti, J. C. P.; Zat, M.; Bentes, K. R. S.; Ferreira, L. S.; Benvenuti, E. V.; Lima, E. C.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2003**, *18*, 376.
11. Arenas, L. T.; Vaghetti, J. C. P.; Moro, C. C.; Lima, E. C.; Benvenuti, E. V.; Costa, T. M. H.; *Mater. Lett.* **2004**, *58*, 895.
12. Moraes, S. V. M.; Tisott, M. M.; Milcharek, C. D.; Brasil, J. L.; Costa, T. M. H.; Gallas, M. R.; Benvenuti, E. V.; Lima, E. C.; *Anal. Sci.* **2005**, *21*, 573.
13. Moraes, S. V. M.; Brasil, J. L.; Milcharek, C. D.; Martins, L. C.; Laranjo, M. T.; Gallas, M. R.; Benvenuti, E. V.; Lima, E. C.; *Spectrochim. Acta, Part A* **2005**, *62*, 398.
14. Pavan, F. A.; Costa, T. M. H.; Benvenuti, E. V.; Jacques, R. A.; Cordova, M. C.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 730.
15. Babel, S.; Kurniawan, T. A.; *J. Hazard. Mater.* **2003**, *97*, 219.
16. Arrascue, M. L.; Garcia, H. M.; Horna, O.; Guilbal, E.; *Hydrometallurgy* **2003**, *71*, 191.
17. Moret, A.; Rubio, J.; *Miner. Eng.* **2003**, *16*, 715.
18. Pergher, S. B. C.; Oliveira, L. C. A.; Smaniotto, A.; Petkowicz, D. I.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 751.
19. Zhang, F. S.; Itoh, H.; *J. Hazard. Mater.* **2003**, *101*, 323.
20. Wang, Y. H.; Lin, S. H.; Juang, R. S.; *J. Hazard. Mater.* **2003**, *102*, 291.
21. Pagnanelli, F.; Mainelli, S.; Véglìo, F.; Toro, L.; *Chem. Eng. Sci.* **2003**, *58*, 4709.
22. Veglió, F.; Beolchini, F.; Prisciandaro, M.; *Water Res.* **2003**, *37*, 4895.
23. Capasso, R.; Pigna, M.; De Martino, A.; Pucci, M.; Sannino, F.; Violante, A.; *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38*, 5170.
24. Kannan, N.; Rajakumar, A.; *Toxicol. Environ. Chem.* **2001**, *84*, 7.
25. Ma, W.; Tobin, J. M.; *Biochem. Eng. J.* **2004**, *18*, 33.
26. Bailey, S. E.; Olin, T. J.; Bricka, M.; Adrian, D.; *Water Res.* **1999**, *33*, 2469.
27. Daifullah, A. A. M.; Girgis, B. S.; Gad, H. M. H.; *Mater. Lett.* **2003**, *57*, 1723.
28. Sumathi, K. M. S.; Mahimairaja, S.; Naidu, R.; *Bioresour. Technol.* **2005**, *96*, 309.
29. Minamisawa, M.; Minamisawa, H.; Yoshida, S.; Takai, N.; *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5606.
30. Farajzadeh, M. A.; Monji, A. B.; *Sep. Purif. Technol.* **2004**, *38*, 197.
31. Basci, N.; Kocadagistan, E.; Kocadagistan, B.; *Desalination* **2004**, *164*, 135.
32. Melo, J. S.; D'Souza, S. F.; *Bioresour. Technol.* **2004**, *92*, 151.
33. Šciban, M.; Klačnja, M.; *Holz Roh Werkst* **2004**, *62*, 69.
34. Nuhogly, Y.; Oguz, E.; *Process Biochem.* **2003**, *38*, 1627.
35. Chubar, N.; Carvalho, J. R.; Correia, J. N.; *Colloids Surf., A* **2004**, *230*, 57.
36. Saeed, A.; Iqbal, M.; *Water Res.* **2004**, *37*, 3472.
37. Dávila-Jimenez, M. M.; Elizalde-González, M. P.; Geyer, W.; Mattush, J.; Wennrich, R.; *Colloids Surf., A* **2003**, *219*, 243.
38. Martins, R. J.; Pardo, R.; Boaventura, R. A. R.; *Water Res.* **2004**, *38*, 693.
39. Cossich, E. S.; Da Silva, E. A.; Tavares, C. R. G.; Cardozo-Filho, L.; Ravagnani, T. M. K.; *Adsorption* **2004**, *10*, 129.
40. Ibáñez, J. P.; Umetsu, Y.; *Hydrometallurgy* **2004**, *72*, 327.
41. <http://www.divinut.com.br/nogueira.htm>, acessada em Janeiro 2006.
42. Zagatto, E. A. G.; Jacintho, A. O.; Reis, B. F.; Krug, F. J.; Bergamin-Filho, H.; Pessenda, L. C. R.; Mortatti, J.; Giné, M. F.; *Manual de Análises de Plantas e Águas empregando sistemas de injeção em fluxo*, Centro de Energia Nuclear na Agricultura: Piracicaba, 1981.
43. De Barros Neto, B.; Scarmínio, I. S.; Bruns, R. E.; *Como Fazer Experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*, Ed. da Unicamp: Campinas, 2003.
44. Brasil, J. L.; Martins, L. C.; Ev, R. R.; Dupont, J.; Dias, S. L. P.; Sales, J. A. A.; Airoidi, C.; Lima, E. C.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2005**, *15*, 475.
45. Brasil, J. L.; Ev, R. R.; Milcharek, C. D.; Martins, L. C.; Pavan, F.; dos Santos Júnior, A. A.; Dias, S. L. P.; Dupont, J.; Noreña, C. P. Z.; Lima, E. C.; *J. Hazard. Mater.* **2006**, *133*, 143.
46. Scotti, R.; Lima, E. C.; Benvenuti, E. V.; Piatnicki, C. M. S.; Dias, S. L. P.; Gushikem, Y.; Kubota, L. T.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 208.
47. Costa, L. M.; Korn, M. G. A.; Castro, J. T.; Santos, W. P. C.; Carvalho, E. V.; Nogueira, A. R. A.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 149.
48. Felsner, M. L.; Bruns, R. E.; Matos, J. R.; Cano, C. B.; Almeida-Muradian, L. B.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 713.
49. Costa, L. M.; Ferreira, S. L. C.; Nogueira, A. R. A.; Nóbrega, J. A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1269.
50. Felsner, M. L.; Cano, C. B.; Matos, J. R.; De Almeida-Muradian, L. B.; Bruns, R. E.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 797.
51. Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 246.
52. Neves, C. F. C.; Schwartzman, M. M. A. M.; Jordão, E.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 327.
53. Reis, C.; De Andrade, J. C.; Bruns, R. E.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 189.