



**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE ENGENHARIA E ARQUITETURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL E  
AMBIENTAL  
Área de Concentração: Infraestrutura e Meio Ambiente**

**Clinei Dal Magro**

**BIOSSORÇÃO DE CROMO ATRAVÉS DA MICROALGA  
*Spirulina platensis***

**Passo Fundo  
2013**

**Clinei Dal Magro**

**BIOSSORÇÃO DE CROMO ATRAVÉS DA MICROALGA**  
*Spirulina platensis*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo, como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia na área de concentração Infraestrutura e Meio Ambiente, sob a orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciane Maria Colla.

Passo Fundo  
2013

Clinei Dal Magro

BIOSSORÇÃO DE CROMO ATRAVÉS DA MICROALGA  
*Spirulina platensis*

Dissertação de Mestrado apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia na área de concentração Infraestrutura e Meio Ambiente.

Aprovado pela banca examinadora em 14 de janeiro de 2013.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciane Maria Colla, orientadora  
Universidade de Passo Fundo - UPF

Prof. Dr. Vandr e Barbosa Bri o  
Universidade de Passo Fundo - UPF

Prof. Dr. Marcelo Hemkemeier  
Universidade de Passo Fundo - UPF

Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa  
Universidade Federal de Rio Grande – FURG

Passo Fundo  
2013

**À DEUS,**

*Pelo dom da vida, pela força, pela fé, por iluminar e abençoar meu caminho....*

**AGRADEÇO.**

*À minha namorada, Maitê Carla, aos meus pais, David e Elidia e a toda minha família ...*

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, minha luz, força e fé. Por abençoar e iluminar meu caminho durante essa caminhada;

A minha namorada, Maitê Carla Deon, pelo apoio incondicional, amor, carinho, companheirismo e compreensão durante esse tempo em que estive ocupado com essa dissertação. Agradeço o sorriso, o abraço, a paciência, a mão estendida em todos os momentos.

A minha família, pelo apoio, carinho, incentivo e compreensão e pelos momentos que não lhes dei a atenção desejada;

A minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciane Maria Colla, pela orientação, ensinamentos, auxílio durante as pesquisas e pela amizade consolidada nesses anos que trabalhamos juntos;

A minha colega de mestrado, Roberta, pela ajuda, apoio e amizade durante o desenvolvimento das pesquisas;

Ao professor Jeferson Steffanello Piccin, pelo acompanhamento, ensinamentos, colaboração e pela amizade desenvolvida;

A estagiária do Laboratório de Fermentações, Gabriela, que sempre quando necessário me auxiliou nas tarefas e pela amizade desenvolvida;

Aos colegas do Laboratório de Fermentações que sempre quando necessário me auxiliaram nas tarefas e pela amizade desenvolvida;

As funcionárias do Laboratório do curso de Engenharia Ambiental da UPF, Marilda e Manuelli, que sempre quando necessário me auxiliaram nas tarefas e pela amizade desenvolvida;

Ao responsável pelo Laboratório de Aulas Práticas, João Carlos, o qual sempre esteve disposto para auxiliar nos momentos em que precisei;

A secretária do Curso de Engenharia de Alimentos, Vânia, que sempre esteve à disposição quando precisei;

A secretária do Programa de Pós-Graduação em Engenharia, Vânia Cristina, pela disposição e suporte oferecido durante o desenvolvimento do mestrado;

Ao curso de Engenharia de Alimentos pelo suporte de laboratórios e equipamentos utilizados;

A Universidade de Passo Fundo, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e a Faculdade de Engenharia e Arquitetura;

A todos que, de alguma forma, me ajudaram e me apoiaram durante essa caminhada, meu MUITO OBRIGADO!

## RESUMO

Grande parte dos processos industriais geram efluentes com alta carga poluidora, sendo que os metais tóxicos, dentre eles o cromo, são um dos componentes mais perigosos presentes nesses efluentes, os quais necessitam tratamento adequado para não causar graves danos ao meio ambiente e a saúde humana. Nesse sentido, buscam-se alternativas para tratar esses efluentes que sejam eficientes e viáveis no campo econômico e ambiental. Em trabalhos realizados com a microalga *Spirulina platensis*, a mesma apresentou capacidade para remoção de metais. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial dessa biomassa, ativa e inativa, para bioissorção de cromo (VI) bem como avaliar a capacidade da mesma para conversão do cromo (VI) em cromo (III), menos tóxico. Inicialmente foram feitos ensaios com a biomassa inativa utilizando-se efluente sintético (dicromato de potássio) contendo cromo (VI) e foram analisadas as variáveis mais influentes no processo (pH, concentração de bioissorvente, tempo reacional, agitação, concentração inicial de cromo (VI) e pré-tratamento da biomassa). A partir das variáveis que apresentaram maior influência no processo, foram realizados novos ensaios buscando elevar os índices de bioissorção passiva. A biomassa ativa da microalga foi cultivada em meio Zarrouk diluído a 50%, mantendo-se os experimentos em condições controladas de aeração, temperatura e luminosidade, onde foi adicionado solução de dicromato de potássio através do processo de batelada alimentada e foi avaliado periodicamente a variação de pH, crescimento microalgal e remoção de cromo (VI). Ao final dos experimentos de bioissorção passiva, constatou-se que a microalga possui potencial para bioissorção de cromo (VI), atingindo remoção de  $100,39 \text{ mg.g}^{-1}$ , sendo o pH a variável que apresentou maior influência no processo. No processo de bioissorção ativa, o crescimento celular foi afetado pela presença do metal nos cultivos, sendo que a microalga apresentou melhores índices de crescimento em menores concentrações de metal no meio. O processo de bioissorção ativa de cromo (VI) apresentou maior eficiência de remoção em menores concentrações do metal no meio, sendo que obteve-se índices de remoção de cromo (VI) de 65,23%. Do total do cromo (VI) removido do efluente, 90,42% foi convertido em cromo (III) e 9,58% ficou retido na biomassa, indicando o potencial da biomassa ativa da *Spirulina platensis* para remoção e conversão do cromo hexavalente em trivalente.

Palavras-chave: bioissorção, cianobactéria, cromo, micro-organismos.

## ABSTRACT

Largest part of the industrial processes generate wastewater with high pollutant load and toxic metals, including chromium, which is one of the most dangerous components present in effluents, that require proper treatment to prevent serious damage to the environment and human health. In this sense, seek alternatives for treating these effluents that are efficient and viable in the economic field and environmental. *Spirulina platensis* had showed capacity to metal removal in previous studies. The aim of this work was to assess the potential of the active and inactive biomass to realize the biosorption of chromium (VI) and verify the biomass capacity for the conversion of chromium (VI) to chromium (III) during the active biosorption. Initially the tests were performed with inactive biomass utilizing synthetic effluent (potassium dichromate) containing chromium (VI) being studied the variables pH, concentration of biosorbents, reaction time, agitation, concentration initial chromium (VI) and pretreatment the biomass. With the variables that presented the greatest influence in the process, other tests were performed to increase levels of passive biosorption. The active biomass from microalgae cultivated in middle Zarrouk was diluted to 50%, keeping the experiments in controlled conditions of aeration, temperature and luminosity. Potassium dichromate solution was added through fed batch mode being assessed periodically the pH, the microalgal growth and the removal of chromium (VI). At the end of the experiments of passive biosorption it was found that the microalgae has potential for biosorption of chromium (VI), reaching removal  $100,39 \text{ mg.g}^{-1}$ , the pH being the variable that most influenced the process. In the process of active biosorption, cell growth was affected by the presence of metal in the cultivations, being that the microalgae had the best growth rates in lower concentrations of metal in the middle. The process of biosorption active chromium (VI) showed higher removal efficiency at lower concentrations of metal in the middle, and there was obtained indices of removing chromium (VI) 65,23%. Of the total chromium (VI) removed from the effluent, 90,42% was converted into chromium (III) and 9,58% was retained in the biomass, indicating the potential of the active biomass of *Spirulina platensis* for removal and conversion of the hexavalent chromium to trivalent.

Keywords: biosorption, cyanobacterium, chromium, micro-organisms.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação do procedimento experimental para obtenção de dados para construção da isoterma.....	22
Figura 2: Representação Esquemática de alguns tipos de isotermas.....	23
Figura 3: Exemplo comparativo de isotermas .....	23
Figura 4: Classificação das isotermas de adsorção segundo Giles (1960) .....	24
Figura 5: Cromo metálico.....	30
Figura 6: Etapas desenvolvidas na pesquisa de bioadsorção passiva com a microalga <i>Spirulina platensis</i> .....	43
Figura 7: Etapas desenvolvidas na pesquisa com a biomassa ativa .....	47
Figura 8: Esquema de operação de biorreator em modo batelada alimentada. ....	48
Figura 9: Remoção de cromo (VI) do efluente em função do tempo de contato com a biomassa inativa da <i>S. platensis</i> (a) tempo de 10 min a 5 h (b) tempo de 10 min a 48 h..	58
Figura 10: Dados da isoterma de adsorção do cromo (VI) pela biomassa inativa da <i>S. platensis</i> .....	62
Figura 11: Crescimento microalgal em relação ao tempo de cultivo .....	68
Figura 12: Superfície de resposta da concentração máxima de biomassa ( $C_{max}$ ) em função das variáveis do PFC $2^2$ .....	72
Figura 13: Superfície de resposta da velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{max}$ ) em função das variáveis do PFC $2^2$ .....	73
Figura 14: Superfície de resposta da remoção de cromo (VI) do efluente em função das variáveis do PFC $2^2$ .....	83
Figura 15: Superfície de resposta da conversão de cromo (VI) em cromo (III) no efluente em função das variáveis do PFC $2^2$ .....	85
Figura 16: Superfície de resposta da retenção de cromo total na biomassa em função das variáveis do PFC $2^2$ .....	87

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades químicas do cromo.....	29
Tabela 2: Propriedades físicas do cromo.....	30
Tabela 3: Parâmetros para lançamento de efluentes contendo metais.....	34
Tabela 4: Limites legais de lançamento de cromo total em alguns países.....	34
Tabela 5: Planejamento Fatorial Fracionário $2^{6-2}_{IV}$ para avaliação das variáveis que apresentam influência significativa sobre o processo de bio sorção passiva pela microalga <i>Spirulina platensis</i> .....	44
Tabela 6: Planejamento Experimental $2^3$ com três pontos centrais para avaliação da remoção de cromo (VI) a partir das variáveis que apresentaram maior influência no processo bio sortivo do PFF $2^{6-2}_{IV}$ .....	45
Tabela 7: Dados utilizados para construção da isoterma.....	46
Tabela 8: Planejamento Fatorial Completo $2^2$ com três pontos centrais para o estudo da remoção de cromo em biorreator operado em modo batelada alimentada.....	49
Tabela 9: Remoção de cromo (VI) no processo de bio sorção passiva com a microalga <i>S. platensis</i> segundo os ensaios do PFF $2^{6-2}_{IV}$ .....	54
Tabela 10: Efeitos estimados das variáveis do PFF $2^{6-2}_{IV}$ para remoção de cromo (VI) com a biomassa de <i>Spirulina platensis</i> inativa.....	56
Tabela 11: Resultados de remoção de cromo (VI) em função do tempo de contato com a biomassa inativa da <i>S. platensis</i> .....	58
Tabela 12: Variáveis utilizadas e resultados obtidos conforme Planejamento Experimental $2^3$ a partir das variáveis mais influentes do PFF $2^{6-2}_{IV}$ .....	60
Tabela 13: Efeitos estimados das variáveis utilizadas no Planejamento Experimental $2^3$ no processo de bio sorção de cromo (VI) com a biomassa inativa de <i>S. platensis</i> .....	61
Tabela 14: Variáveis utilizadas para construção da isoterma e resultados de bio sorção de cromo (VI) com a biomassa inativa de <i>S. platensis</i> .....	62
Tabela 15: Parâmetros de crescimento da microalga <i>S. platensis</i> durante os processos de bio sorção ativa de cromo (VI).....	69
Tabela 16: Análise de variância do modelo de regressão da Concentração máxima de crescimento ( $C_{max}$ ) em função das variáveis do PFC $2^2$ , no processo de bio sorção ativa pela microalga <i>S. platensis</i> .....	71
Tabela 17: Análise de Variância do modelo de regressão gerado a partir das variáveis do PFC $2^2$ sobre Concentração máxima de crescimento ( $C_{max}$ ) dos experimentos.....	71
Tabela 18: Análise de variância do modelo de regressão gerado a partir da influência das variáveis do PFC $2^2$ sobre a velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{max}$ ) dos experimentos.....	72
Tabela 19: Efeitos estimados e coeficientes de regressão das variáveis do PFC $2^2$ sobre a velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{max}$ ).....	73
Tabela 20: Cromo total adicionado e recuperado através dos métodos analíticos nos ensaios de bio sorção ativa com a microalga <i>S. platensis</i> .....	74
Tabela 21: Parcelas de cromo (VI) e cromo (III) existentes no efluente e na biomassa em relação ao cromo total recuperado ao final do cultivo.....	77
Tabela 22: Eficiência de remoção de cromo (VI) e conversão do cromo (VI) em cromo (III) na biomassa e no efluente em relação ao cromo total recuperado ao final dos cultivos.....	77
Tabela 23: Análise de variância do modelo de regressão gerado a partir da influência das variáveis do PFC $2^2$ sobre a remoção de cromo (VI) do efluente.....	81
Tabela 24: Efeitos estimados e coeficientes de regressão obtidos a partir da influência das variáveis do PFC $2^2$ sobre a remoção de cromo (VI) do efluente.....	81

Tabela 25: Análise de variância do modelo de regressão gerado a partir da influência das variáveis do PFC 2 <sup>2</sup> sobre a transformação de cromo (VI) em cromo (III) no efluente....	83
Tabela 26: Análise de Variância do modelo de regressão gerado a partir das variáveis do PFC 2 <sup>2</sup> sobre a conversão de cromo (VI) em cromo (III) no efluente .....	84
Tabela 27: Análise de variância do modelo de regressão gerado a partir da influência das variáveis do PFC 2 <sup>2</sup> sobre a retenção de cromo total na biomassa .....	85
Tabela 28: Análise de Variância do modelo de regressão gerado a partir das variáveis do PFC 2 <sup>2</sup> sobre a retenção de cromo total na biomassa.....	86

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
2.1	Biossorção de metais .....	16
2.1.1	Isotermas de sorção .....	21
2.2	Metais tóxicos.....	25
2.2.1	Contaminação ambiental por metais e seus efeitos .....	26
2.2.2	Toxicidade do cromo .....	29
2.2.3	Cromo em efluentes.....	31
2.3	Legislação ambiental .....	33
2.4	Processos de remoção de metais tóxicos de efluentes.....	34
2.5	Algas e microalgas.....	36
2.5.1	<i>Spirulina platensis</i> .....	38
2.6	Biossorção de metais por algas.....	39
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	42
3.1	Ensaio de biossorção passiva .....	42
3.2	Ensaio de biossorção ativa .....	47
3.2.1	Microrganismo e manutenção do inóculo .....	47
3.2.2	Condições de cultivo .....	48
3.2.3	Acompanhamento dos parâmetros cinéticos de crescimento microalgal .....	49
3.2.4	Determinações de cromo .....	51
3.3	Análise dos resultados .....	53
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	54
4.1	Biossorção passiva.....	54
4.2	Biossorção ativa.....	67
4.2.1	Avaliação do crescimento microalgal durante os processos de biossorção ativa pela <i>S. platensis</i> .....	67
4.2.1.1	Análise estatística dos resultados de crescimento microalgal no processo de biossorção ativa pela <i>S. platensis</i> .....	70
4.2.2	Remoção de cromo (VI) e conversão em cromo (III) durante a biossorção ativa com <i>S. platensis</i> .....	74
4.2.2.1	Análise estatística dos resultados de remoção de cromo (VI) e conversão em cromo (III) no processo de biossorção ativa com <i>S. platensis</i> .....	80
4.3	Avaliação dos resultados de biossorção de cromo (VI) .....	87
5	CONCLUSÃO .....	89
5.1	Sugestões para trabalhos futuros .....	89
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	91
	APÊNDICE A .....	105
	APÊNDICE B.....	106
	APÊNDICE C.....	107
	ANEXO A .....	108
	ANEXO B .....	109
	ANEXO C .....	110
	ANEXO D .....	111

## 1 INTRODUÇÃO

O constante crescimento populacional tem provocado a procura por produtos e serviços industrializados, sendo que, em grande parte dos processos industriais ocorre a geração de resíduos com elevada carga poluidora. Um dos compostos mais nocivos encontrados nesses resíduos são os metais tóxicos, os quais podem ser prejudiciais ao ambiente e a saúde humana.

A contaminação de solos e água por metais tóxicos está se tornando um grave problema para manter as condições naturais equilibradas, pois, estes representam risco eminente de poluição ambiental. Os metais tóxicos podem provocar problemas de toxicidade aos organismos expostos a eles, pois apresentam alto tempo de meia vida, permanecendo ativos no meio ambiente, e por possuírem alta capacidade de acumulação no corpo humano (JIMENEZ et al., 2004).

Os metais tóxicos são fontes potenciais de degradação ambiental, visto que eles produzem alterações na qualidade das águas e do solo. Estas alterações têm um impacto direto no equilíbrio dos ecossistemas ambientais, afetando direta ou indiretamente a saúde dos seres humanos. No corpo humano, o excesso de metais pode causar diversas doenças e sérios problemas fisiológicos. De acordo com Salgado (2003), o contato com a pele pode causar dermatite alérgica e, mais raramente, provocar ulcerações formando cicatrizes, perfurações no septo nasal, distúrbios afetivos, irritação neuromuscular, cefaléia, náuseas e desmaios, podendo, também, atingir o sistema imunológico dos seres humanos. Alguns desses metais são capazes de provocar efeitos tóxicos agudos e câncer (BATISTA; FREIRE, 2010). Para Santos (2010), dentre os metais tóxicos, o chumbo, o níquel, o mercúrio, o cádmio e o cromo são os de maior preocupação devido à acumulação em solos e contaminação de águas subterrâneas.

Inúmeras atividades humanas podem levar à poluição do ambiente por metais, tais como: a disposição de resíduos sólidos e industriais no solo, vazamentos e derramamentos, atividades industriais (galvanoplastia e mineração), aplicação de fertilizantes e agroquímicos, disposição no solo de rejeitos agroindustriais e lodos de estação de tratamento de efluentes (KORF, 2011).

Segundo Melo et al. (2010), a impermeabilização inadequada de aterros de resíduos sólidos pode levar a contaminação do solo e dos recursos hídricos através do lixiviado, devido a sua elevada concentração de metais e baixa degradabilidade (MAUS et al., 2009).

Dentre os metais tóxicos, o cromo se destaca devido à grande gama de utilização em diversos processos industriais, como na indústria do aço e de ligas, indústria de cimento, galvanoplastia, curtumes, entre outras. Esse metal é um dos mais preocupantes, pois apresenta grande período de permanência no ambiente devido a sua elevada capacidade de bioacumulação na cadeia alimentar.

Segundo Freitas e Melnikov (2006), os efeitos da bioacumulação em longo prazo nem sempre são previsíveis, principalmente no caso de compostos como o cromo, que não se decompõem ou que apresentam baixa degradabilidade, permanecendo ativo no meio ambiente, onde são absorvidos pelos organismos em concentrações muito maiores do que as de seu lançamento inicial. No ambiente, o cromo atinge os lençóis freáticos com facilidade, ou mesmo reservatórios ou rios que são as fontes de abastecimento de água para a população (CANUTO et al., 2007). O resíduo no solo pode ser absorvido por plantas que posteriormente servirão de alimento diretamente ao homem ou a animais (MERLINO et al., 2010).

Em geral, para reduzir a carga poluidora de efluentes contendo metais, esses efluentes são encaminhados para estações de tratamento de efluentes de forma a garantir que ao final do processo, o efluente tratado atinja os padrões de lançamento impostos pela legislação, sendo que muitas vezes encontram dificuldades para atender a padronização legal, necessitando de processos complementares para reduzir a carga poluidora ao nível exigido pela legislação.

Em decorrência dos vários problemas ocasionados pelo despejo de efluentes contendo metais tóxicos, o cumprimento da legislação ambiental ao atendimento dos padrões de lançamento de efluentes nos corpos hídricos superficiais é fundamental para a preservação dos mesmos. A legislação brasileira referente ao lançamento de efluentes contendo metais estabelece, através da Resolução 430/2011 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), como valor máximo de concentração de cromo (III) em efluentes de  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  e para cromo (VI) o valor máximo de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Sob o ponto de vista ambiental, um dos maiores impactos produzidos abrange a geração de efluentes com alta concentração de metais tóxicos. Esses efluentes representam um problema mundial, visto que uma gama imensa de processos podem gerar efluentes contendo metais. Em termos regionais, na região do Planalto Rio-grandense, além dos diversos segmentos industriais que geram efluentes contendo metais em sua composição, existe a preocupação em função da avançada indústria de extração e tratamento de pedras preciosas, principalmente na região de Soledade/RS, e pela existência do Laboratório de Análises de Solos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo/RS.

Laboratórios de análises de solos geram efluentes ricos em cromo proveniente da utilização de soluções sulfocrômicas para oxidação da matéria orgânica. Essas soluções contêm dicromato de sódio e ácido sulfúrico, embora ela apresente uma boa exatidão e precisão, o uso dessa solução contribui para a presença de cromo nos efluentes laboratoriais deste ramo, representando um risco à qualidade ambiental e a saúde pública. Na Universidade de Passo Fundo existe o Laboratório de Análises de Solos que utiliza solução sulfocrômica em suas análises, gerando efluente rico em cromo (VI), o qual necessita de tratamento adequado e eficiente para posterior destinação final.

Outro problema relacionado à existência de efluentes contendo metais tóxicos, em especial o cromo, é através do tingimento da pedra preciosa ágata do município de Soledade/RS (OLIVEIRA; PRADO, 2006). Segundo Prado e Signor (2009), o efluente gerado pela indústria de tingimento de pedras, contém metais tóxicos, dentre os quais o cromo em seus estados trivalente e hexavalente.

Diante disso, faz-se necessária a busca de alternativas que sejam eficientes do ponto de vista técnico e econômico e que ao mesmo tempo sejam menos poluentes. Vários métodos vêm sendo utilizados para remoção de íons metálicos de soluções (como por exemplo: precipitação química, processos com membranas, extração em fase sólida), mas nem sempre são eficientes e apresentam-se com elevado custo, principalmente quando aplicados a soluções diluídas de metais. Portanto, a busca de novas tecnologias de tratamento desses efluentes que apresente vantagens em relação ao custo-benefício do processo vem direcionando ao aumento no interesse sobre o processo de bioissorção (DAS et al., 2008).

A bioissorção consiste na absorção de metais tóxicos por microrganismos (biomassa) vivos ou mortos (QUINTELAS et al., 2008). De acordo com Pietrobelli et al. (2009), a bioissorção é uma alternativa eficaz aos tratamentos de efluentes convencionais já utilizados, pois, os microrganismos retêm os metais promovendo uma auto-regeneração do efluente e qualificando o processo. Assim, o processo de bioissorção surge como uma tecnologia promissora e em atual expansão em relação à sua aplicação no tratamento e polimento final de efluentes contendo metais tóxicos (KRATOCHVIL; VOLESKY, 1998; MÓDENES et al., 2009).

A utilização de biomassa algal para bioissorver metais tóxicos apresenta vantagens como baixo custo e boa eficiência no processo (DAS et al., 2008). As algas podem ser utilizadas no tratamento de águas residuais, desintoxicação biológica e controle de metais tóxicos em águas naturais ou em águas contaminadas industrialmente, sendo que, as algas

podem acumular metais na sua parede externa através de mecanismos físicos, químicos e biológicos (MANE et al., 2011).

As algas tornaram-se uma importante fonte de estudos para remoção de metais tóxicos presentes em efluentes, frente a sua capacidade de retenção e imobilização desses compostos (VILAR et al., 2011). Dentro desse cenário, a microalga *Spirulina platensis* ocupa lugar de destaque, visto que em estudos realizados por diversos autores, a microalga apresentou grande capacidade de remoção de íons metálicos de soluções aquosas (ARUNAKUMARA; XUECHENG, 2007; DOSHI et al., 2007).

O uso da microalga *Spirulina platensis* para fins ambientais tem sido tema de diversos trabalhos já realizados por discentes e docentes dos cursos de Engenharia Ambiental, Engenharia de Alimentos e Química da Universidade de Passo Fundo, como por exemplo no tratamento de efluentes com elevada carga orgânica (MEZZOMO et al., 2010), na remoção de Cd e Pb (VIACELLI et al., 2008), na remoção de Cr (VI) de meios de cultivo sintéticos (TEDESCO, 2010) e na remoção de Cr (VI) e DQO de efluentes (DAL'MAGRO et al., 2011).

Considerando-se que em trabalhos anteriores essa microalga apresentou bons resultados de bioadsorção, esse trabalho teve como objetivo geral avaliar a capacidade da microalga *Spirulina platensis* na bioadsorção de cromo. Os objetivos específicos foram:

- a) Estudar a bioadsorção passiva de cromo (VI) a partir de biomassa inativa da microalga *Spirulina platensis*;
- b) Estudar a bioadsorção ativa de cromo (VI) a partir de biomassa ativa da microalga *Spirulina platensis*;
- c) Avaliar nos ensaios de bioadsorção ativa, a capacidade de transformação de cromo (VI) em cromo (III), menos tóxico.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Biossorção de metais

A aplicação de processos biotecnológicos envolvendo microrganismos com o objetivo de solucionar ou minimizar problemas de poluição ambiental, tem se tornado crescente (OLIVEIRA et al. 2008). Os microrganismos têm sido utilizados para transformação de substâncias químicas tóxicas presentes no solo e água em outras menos tóxicas, não tóxicas, ou redução de sua concentração a níveis aceitáveis (CRAPEZ et al., 2002).

A biossorção é um processo pelo qual alguns tipos de organismos, vivos ou mortos podem enclausurar ou concentrar metais tóxicos a partir de soluções aquosas (NAJA; VOLESKY, 2006). Este processo biológico tem um papel muito importante na remoção dos metais tóxicos de soluções aquosas, particularmente no tratamento de grandes volumes de soluções diluídas (FERRAZ et al., 2004). É um processo onde inclui baixos custos de operação, minimiza as quantidades de lamas a depositar e tem uma alta eficiência na desintoxicação de efluentes diluídos (QUINTELAS, 2007 apud VIEIRA, 2009).

Para Strandberg et al (1985) citados por Del Rio (2004), a biossorção é caracterizada por ser um processo que apresenta duas fases: a primeira independente de energia e de atividade metabólica (adsorção); e a segunda dependente de energia e do metabolismo (absorção).

Do ponto de vista da terminologia, o termo biossorção/adsorção (biossorção passiva) é normalmente utilizado para células mortas e o termo bioacumulação (biossorção ativa) é normalmente usado para células vivas (VOLESKY, 1990 apud VEIMROBER, 2010). Porém, segundo Duarte (2002), a definição de bioacumulação é mais abrangente, englobando várias etapas, sendo que a acumulação intracelular no organismo trata-se de uma dessas etapas, a qual é sequenciada pelas etapas posteriores que compreendem a bioacumulação ao longo de toda a cadeia trófica, alcançando as maiores concentrações no topo dessa cadeia. Analisando a questão terminológica por essa ótica, para o trabalho em questão, é conveniente a utilização das terminações biossorção passiva (ocorre com biomassa morta) e biossorção ativa (ocorre com biomassa viva), uma vez que a denominação bioacumulação abrange não somente o processo em si, mas sim toda a sequência que ocorre ao longo da cadeia alimentar.

Os sistemas utilizados pelas formas ativa e passiva para a remoção de metais tóxicos diferem entre si, pois, as formas ativas se tornam mais complexas para seu estudo por envolverem rotas metabólicas de bioacumulação (BROOKS, 1998 apud LAVARDA, 2010),

mas nas remoções de íons metálicos por biomassas mortas, o sistema é estabelecido por processos físicos e químicos ocorridos entre adsorvente e adsorbato (VAGHETTI, 2009).

O uso de biomassas mortas parece ser uma alternativa preferencial para a remoção de metais. A ampla aceitação de células mortas deve-se a ausência de problemas relativos à toxicidade dos metais, ausência de requerimentos de crescimento e nutrientes e o fato que metais biosorvidos podem ser facilmente recuperados e a biomassa regenerada pode ser reutilizada (WASE; FORSTER, 1997 apud CARVALHO, 2006). Já para a biomassa viva, Lavarda (2010) apresenta pontos desfavoráveis, dentre os quais se pode citar a heterogeneidade das características adquiridas na estrutura do biossorvente durante o seu crescimento. Essa diferença entre amostras de biomassa se deve, principalmente, às diferenças climáticas e nutritivas que o biossorvente é submetido quando está em sua forma ativa. Estudos na área de biossorção com biomassa viva têm sido realizados frequentemente devido a sua eficácia na remoção de metais, porém torna-se necessário proporcionar certas condições nutritivas ao meio para que o mesmo possa obter a capacidade máxima de remoção pelo organismo utilizado (SEKHAR et al., 2003 apud LAVARDA, 2010).

Células vivas e mortas podem ser aplicadas na captação de íons metálicos. No Quadro 1, Mesquita et al. (2001), apresentam uma compilação das principais vantagens e desvantagens associadas ao uso de cada sistema.

A capacidade de captação de metais depende de vários fatores. As características físicas e químicas da estrutura do adsorvente e as propriedades do adsorbato são responsáveis pela intensidade da capacidade de biossorção (VOLESKY, 1990). Dentre essas características, alguns dos principais processos que ocorrem com maior frequência no processo biossortivo são (VOLESKY, 1990; VOLESKY; HOLAN, 1995):

- a) Complexação: é a formação de um complexo a partir da associação de duas ou mais espécies;
- b) Coordenação: é a ligação de um átomo central de um complexo com outros átomos por ligação covalente;
- c) Quelação: é a formação de complexos através de um composto orgânico unido ao metal por pelo menos dois sítios;
- d) Troca iônica: é a troca de íons formando espécies moleculares;
- e) Adsorção: é a sorção através da superfície do tecido orgânico do adsorvente;
- f) Precipitação inorgânica: é a alteração das características no meio aquoso levando a uma precipitação do despejo.

Quadro 1: Comparação das vantagens e desvantagens na utilização de células vivas ou mortas na remoção de íons metálicos de soluções aquosas

	<b>Células vivas</b>	<b>Células mortas</b>
<b>Vantagens</b>	Manipulação genética para melhoramento da linhagem	Produção de biomassa independente, não havendo limitações toxicológicas
	Degradação de compostos organometálicos	Não necessita disposição de produtos do metabolismo
	Possibilidade de uso de dois ou mais micro-organismos de forma sinérgica	Processo não governado por induções fisiológicas
	O metal é menos sensível a dessorção espontânea	Captação rápida e eficiente
	O sistema é auto abastecido, devido ao crescimento celular, não havendo sítios de saturação	Eluição e recuperação do metal com facilidade
Permite modelagem matemática do sistema		
<b>Desvantagens</b>	Toxicidade do metal	Saturação dos sítios interativos
	Necessidade de nutrientes para o metabolismo e crescimento microbiano	Processo sensível ao pH e a espécie metálica
	Disposição de produtos do metabolismo e nutrientes não consumidos	Não há potencial para degradação de compostos organometálicos
	Após a interiorização do metal, o potencial de recuperação é limitado	

Fonte: Adaptado de MESQUITA et al. (2001)

Conforme Del Rio (2004), os mecanismos pelos quais micro-organismos removem metais de soluções são: (a) acumulação extracelular/precipitação; (b) sorção na superfície celular ou complexação; (c) acumulação intracelular.

A ligação biomassa/metal ocorre em função da presença de grupos químicos existentes na biomassa que atraem os metais. Para Volesky e Holan (1995), há vários grupos químicos que podem atrair e reter metais na biomassa: grupos acetamidas da quitina, polissacarídeos estruturais de parede celular de fungos, grupos amins e fosfatos em ácidos nucleicos, grupos amidos, sulfidrilas e carboxilas em proteínas e grupos hidroxilas em polissacarídeos.

Os biossorventes são constituídos principalmente por macromoléculas como substâncias húmicas, lignina, celulose, hemicelulose, proteínas e pectina. Essas macromoléculas apresentam grupos funcionais tais como tiol (-SH), sulfato (-OSO<sub>3</sub>H), carbonila (>C=O), carboxil (-COOH), amina (-NH<sub>2</sub>), amida (-CONH<sub>2</sub>), hidroxil (-OH), fosfato (-OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>) e outros. Esses grupos funcionais são apontados como os principais sítios ativos para sorção de íons metálicos, sendo os átomos de oxigênio, nitrogênio e enxofre os ligantes, devido à capacidade de doação de um par de elétrons (MONTANHER, 2009).

De acordo com Vilar (2006), os grupos funcionais podem contribuir para biossorção, dependendo dos seguintes fatores:

- a) Quantidade de sítios no material biossorvente;
- b) Acessibilidade dos sítios;
- c) Estado químico do sítio (disponibilidade);
- d) Afinidade entre o sítio e o metal (força de ligação).

No processo de biossorção atuam forças físico-químicas que promovem a atração e a ligação do íon metálico, molécula ou material particulado à biomassa (GOMES et al. 1998). A biossorção pode remover metais da solução independentemente do grau de toxidez, apresentando tempos de operação pequenos quando o equilíbrio é alcançado, além de não produzir compostos secundários tóxicos e pode ser altamente seletiva, tornando o processo viável, tanto economicamente como ambientalmente (FERREIRA, 2008).

Como a biossorção é uma reação físico/química entre íons metálicos carregados positivamente ou negativamente e grupos aniônicos ou catiônicos da superfície celular respectivamente, espera-se que a captação metálica pelo biossorvente seja fortemente influenciada pelas condições experimentais tais como pH e temperatura, que afetam a especiação do metal e grupos ativos. Além disso, é possível que os grupos receptivos do biossorvente sejam específicos a certos metais (BUENO, 2007).

A biossorção é uma ferramenta atrativa para a utilização em tratamentos de metais tóxicos, apesar da sua aplicação contínua e crescente de diversos tipos de biomassas na remoção de metais em efluentes, alguns fatores do processo devem ser observados e otimizados para que possam ser atingidas as melhores condições no processo de tratamento. Dentre esses fatores pode-se citar: pH, concentração do soluto e da biomassa, força e natureza dos íons presentes (cátions, ânions e compostos orgânicos) e temperatura de sorção (VOLESKY, 1990). Esses fatores se tornam complexos e desafiadores em estudos que envolvem efluentes industriais, devido à quantidade de íons metálicos, compostos e impurezas que interagem e competem entre si, por sítios ativos do biossorvente (LAVARDA, 2010).

Quanto à concentração do soluto e da biomassa, a eficiência de remoção dos íons pelo biossorvente se reduz quando se aumenta a presença dos íons metálicos, uma vez que, utilizando a mesma quantidade de biomassa para a biossorção, os sítios ativos ficam saturados mais rapidamente do que em concentrações menores (FOUST et al., 1982; VOLESKY, 1990; SEKHAR et al., 2003 apud LAVARDA, 2010).

Para o fator pH, em meios mais alcalinos ocorre um aumento da taxa de adsorção, uma vez que, em pHs ácidos a remoção é menor devido ao fato de existir uma competição pelos sítios ativos do biossorvente entre os íons metálicos e os íons de hidrogênio (presentes em meio ácido). Porém, não é essa a única causa da redução do potencial de biossorção em meios ácidos. Os sítios ativos dos biossorventes, em geral possuem uma natureza ácida fraca e quando eleva-se o valor do pH ocorre a desprotonação da sua estrutura, facilitando assim a captura dos cátions de metais tóxicos presentes no efluente (PAGNANELI et al., 2003). Em pHs baixos, a superfície da biomassa, cheia de íons de hidrogênio, torna-se mais positiva, reduzindo a capacidade de sorção dos metais (SAEED et al., 2005).

Para o máximo aproveitamento da capacidade do biossorvente é necessário antes, conhecer a influência da temperatura de biossorção, que normalmente está situada entre 10°C e 70°C (COSSICH, 2000). Estudos têm demonstrado que as temperaturas ideais para a maioria dos biossorventes estão na faixa de 20°C a 35°C. Nesse intervalo tem-se obtido os melhores resultados para a biossorção, podendo muitas vezes, realizar o tratamento em temperatura ambiente (aproximadamente 20°C para a água), reduzindo-se assim, os custos de energia durante o processo (LAVARDA, 2010).

A capacidade de certos microrganismos concentrarem metais tóxicos é bem conhecida, entretanto, somente durante as duas últimas décadas é que os microrganismos estão sendo usados como uma alternativa para remoção e recuperação de metais em meios aquosos (MOREIRA, 2007). A remoção consiste num processo de contato sólido-líquido utilizando como adsorvente a biomassa microbiana (OLIVEIRA et al., 2008). Há uma grande variedade de material biológico de composições estruturais distintas (organismos aquáticos, fungos, bactérias, etc.) sendo utilizados na biossorção de metais tóxicos. O potencial de remoção desses materiais já é conhecido há tempos, sendo muito comum o seu uso como indicador de poluição de águas (VOLESKY, 1990 apud AMORIM, 2000).

Segundo Rocha et al. (2005), métodos convencionais para a remoção de metais tóxicos, são freqüentemente ineficientes e/ou de alto custo. A biossorção apresenta-se como um método alternativo para o tratamento de efluentes, pois pode aliar baixo custo com grande

capacidade de remoção de metais. Este é um aspecto fundamental para a implantação de um processo de biossorção.

De acordo com Pietrobelli et al. (2008), o processo da biossorção surge como uma alternativa aos métodos convencionais, considerado como a base de uma nova tecnologia de remoção de metais tóxicos de soluções diluídas ( $1-100 \text{ mg.L}^{-1}$ ), ou seja, um processo complementar ao tratamento convencional de efluentes. A biossorção, processo no qual a atenção tem-se aumentado nestes últimos anos, consiste essencialmente na ligação de espécies químicas em biopolímeros, sendo que a existência deste fenômeno tem sido reportada para vários microrganismos, entre eles, bactérias, algas e fungos. O processo oferece como vantagens, os baixos custos operacionais, minimização do volume de lodos químicos e/ou biológicos a serem dispostos e alta eficiência em destoxificação de efluentes muito diluídos.

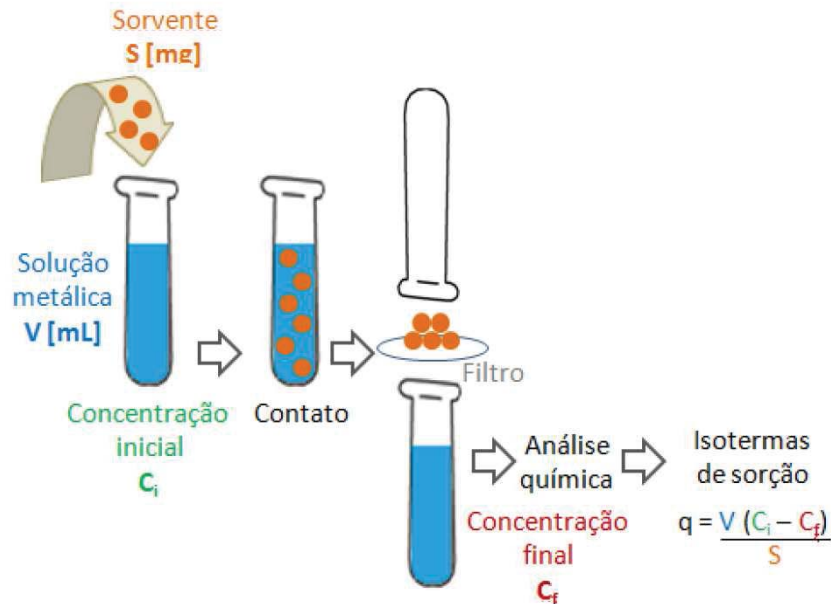
Considerando que as tecnologias convencionais de remediação ambiental são em geral inadequadas para reduzir a níveis aceitáveis as concentrações de metais tóxicos em efluentes contaminados, a biossorção se apresenta como uma solução alternativa de grande interesse. Além disso, os métodos biotecnológicos para a detoxificação de efluentes são menos onerosos que as tecnologias convencionais (SCHENBERG, 2010).

### **2.1.1 Isotermas de sorção**

Isotermas de sorção são curvas obtidas a partir da quantidade de soluto adsorvido em função da concentração desse soluto na solução em equilíbrio (FALONE; VIEIRA, 2004). As isotermas servem para avaliar a capacidade de biossorção de forma quantitativa. Para Silvas (2010), as isotermas são o método mais apropriado para avaliar a capacidade de captação do biossorvente.

O procedimento experimental consiste em colocar em contato a solução contendo o componente a ser adsorvido com diferentes massas de adsorvente até atingir o equilíbrio. Após a filtração pode-se obter a concentração de equilíbrio em solução ( $C_e$  em  $\text{mg.L}^{-1}$ ) e a quantidade de material adsorvido ( $C_{eq}$  em  $\text{mg.g}^{-1}$ ). Os gráficos assim obtidos são as isotermas e podem apresentar-se de várias formas, fornecendo informações importantes sobre o mecanismo de biossorção. Elas mostram a relação de equilíbrio entre a concentração na fase fluida e a concentração nas partículas adsorventes em uma determinada temperatura (BARROS et al., 2001; WANG; QUIN, 2005). A Figura 1 demonstra os passos para construção de uma isoterma de forma experimental, estando a quantidade de material adsorvido ( $C_{eq}$ ) representada pela letra “q”..

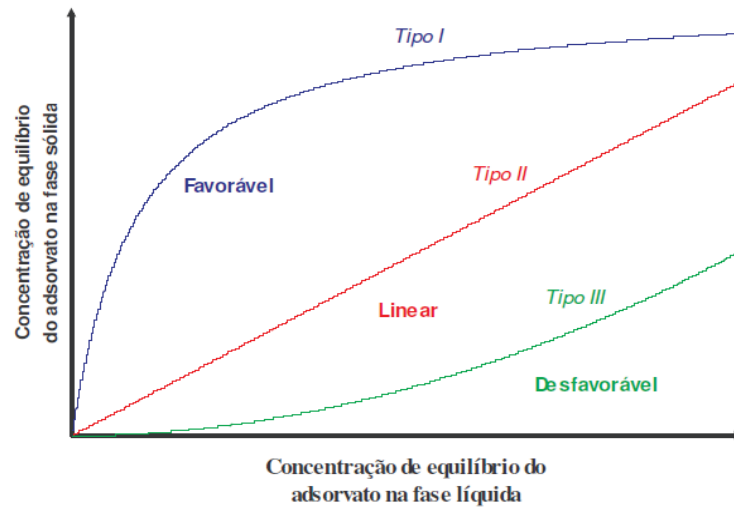
Figura 1: Representação do procedimento experimental para obtenção de dados para construção da isoterma



Fonte: Adaptado de VOLESKY (2007) apud SILVAS (2010)

O grau de afinidade do biossorvente para as espécies metálicas determina a sua distribuição entre as fases sólida e líquida, a temperatura constante e em determinadas condições de pH e força iônica. A qualidade do biossorvente é definida de acordo com a quantidade de íons metálicos que consegue fixar (VILAR, 2006). De uma forma geral podem-se dividir em dois grandes grupos: isotermas favoráveis ou desfavoráveis (DEVAULT, 1943 apud VILAR, 2006). Quando a concentração de equilíbrio de um adsorvente, na fase sólida, aumenta acentuadamente, a adsorção é dita favorável e resulta numa isoterma na forma convexa (isotermas do *Tipo I*), originando uma frente compressiva num processo de leito fixo. Se a isoterma tem uma forma côncava, a adsorção é desfavorável (isotermas do *Tipo III*), e irá originar uma frente dispersiva, tornando o processo pouco eficiente. Quando a concentração de equilíbrio de um adsorvente, na fase sólida, aumenta linearmente com a concentração de equilíbrio do adsorvente na fase líquida, a isoterma é chamada linear ou do *Tipo II*. Esta isoterma é descrita por uma equação simples, o que permite simplificar os modelos de transferência de massa, obtendo soluções analíticas, conforme apresentado na Figura 2.

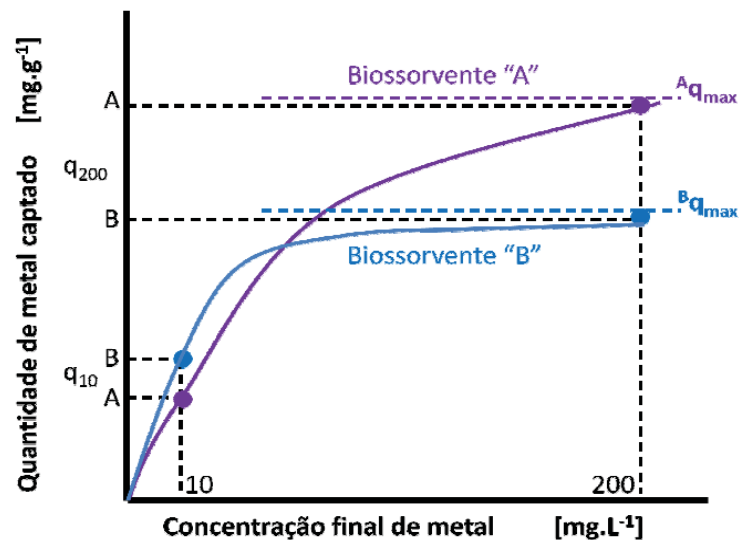
Figura 2: Representação Esquemática de alguns tipos de isotermas



Fonte: VILAR (2006)

A Figura 3 apresenta um exemplo comparativo de isotermas confeccionadas a partir de biossorventes distintos.

Figura 3: Exemplo comparativo de isotermas

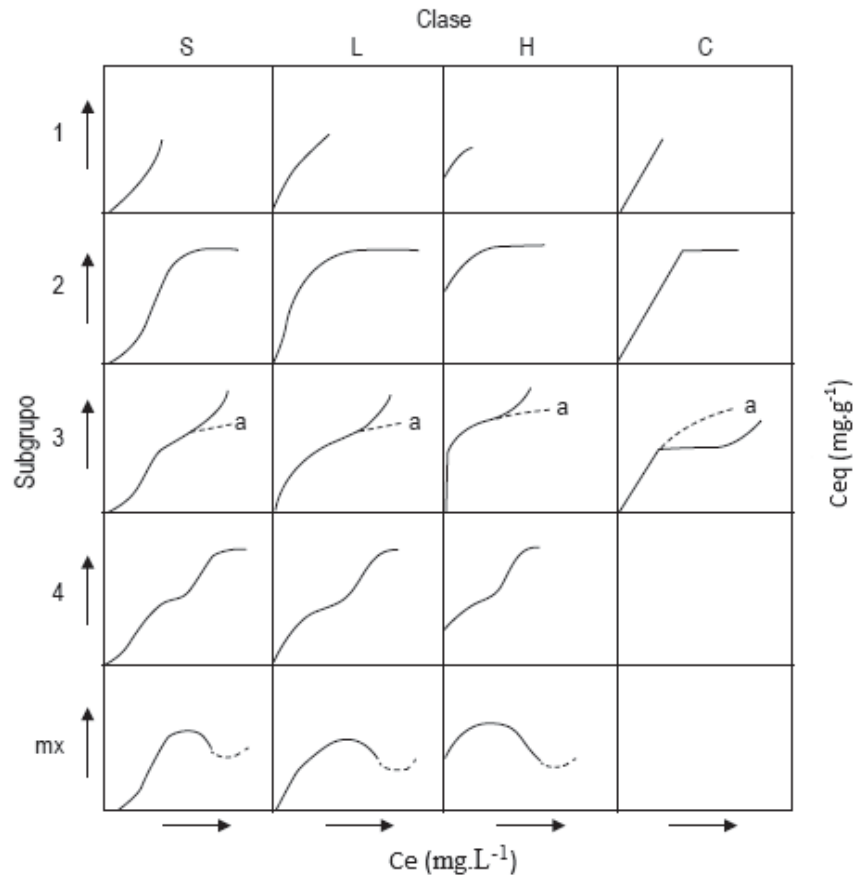


Fonte: SILVAS (2010)

Giles et al. (1960) citados por Falone e Vieira (2004), dividiram as isotermas de adsorção em quatro principais classes, de acordo com sua inclinação inicial e, cada classe, por sua vez, em vários subgrupos, baseados na forma das partes superiores da curva. As quatro classes foram nomeadas de isotermas do tipo S (“Spherical”), L (“Langmuir”), H (“High affinity”) e C (“Constant partition”), conforme apresentado na Figura 4.



Figura 4: Classificação das isotermas de adsorção segundo Giles (1960)



Fonte: adaptado de GILES (1960)

*Isotermas do tipo S:* este tipo de isoterma tem inclinação linear e convexa em relação à abcissa. A adsorção inicial é baixa e aumenta à medida que o número de moléculas adsorvidas aumenta. Isto significa que houve uma associação entre moléculas adsorvidas chamadas de adsorção cooperativa (FALONE; VIEIRA, 2004). Esse tipo de isoterma possui um ponto de inflexão, gerando uma curva em forma sigmoidal. Esse fato sugere que a interação adsorbato-adsorbato é mais forte do que a interação adsorbato-adsorvente. Essa condição favorece a adsorção de moléculas na superfície devido a forte atração com outras moléculas adsorvidas (MANOSALVA, 2008).

*Isotermas do tipo L:* na isoterma do tipo L a relação entre a concentração do composto restante na solução e a quantidade adsorvida na superfície sólida, diminui quando a concentração do soluto aumenta, fornecendo uma curva côncava (MAGALHÃES, 2007). A forma L possui inclinação não linear e côncava em relação à abcissa. Nesse caso, há uma

diminuição da disponibilidade dos sítios de adsorção quando a concentração da solução aumenta (FALONE; VIEIRA, 2004).

*Isotermas do tipo H:* é um caso particular da isoterma do tipo L. esse tipo de isoterma indica alta afinidade entre o soluto e o adsorvente (RODRIGUEZ et al., 2009). Geralmente, nesse tipo de isoterma é observado um declive inicial muito acentuado (MANOSALVA, 2008).

*Isotermas do tipo C:* são isotermas lineares onde se mantem em equilíbrio a massa de soluto na solução aquosa e a massa de soluto adsorvida no adsorvente, sem que se possa especificar os mecanismos de adsorção entre o soluto e o adsorvente (RODRIGUEZ et al., 2009). Esta isoterma admite que a relação entre a quantidade adsorvida na superfície e a concentração em equilíbrio é a mesma em toda a faixa de concentração (MAGALHÃES, 2007).

Para Silvas (2010) modelos de isotermas de equilíbrio são geralmente classificados em equações empíricas e modelos mecanicistas, com base no mecanismo de biossorção de íons metálicos. As equações de Langmuir e Freundlich são os modelos de isotermas mais utilizados, descrevendo o equilíbrio não linear entre o poluente adsorvido nas células e os poluentes em solução a uma temperatura constante.

## **2.2 Metais tóxicos**

Os metais tóxicos podem ser definidos como aqueles elementos que não possuem nenhum papel biológico, ou seja, não são essenciais para o organismo. Os metais tóxicos são comumente chamados de metais pesados, visto que esses possuem, na sua maioria, características que causam toxicidade aos organismos expostos em função da sua atividade tóxica, porém, nem todos os metais pesados são tóxicos e alguns são realmente essenciais.

A expressão metais tóxicos não é muito bem definida, podendo-se utilizar como sinônimos, "metais traço", "elementos traço", "micronutrientes", "microelementos", entre outros (FURTADO, 2007), sendo a definição mais difundida aquela relacionada com a saúde pública: metais tóxicos são aqueles que apresentam efeitos adversos para a saúde humana (CARVALHO, 2006).

Esses elementos podem ser encontrados em todos os compartimentos do ecossistema (DAMIANI, 2010), sendo oriundos de fontes naturais e/ou antrópicas como intemperismo de rochas, deposição atmosférica, lançamentos de efluentes urbanos, industriais e agrícolas, além da lixiviação de resíduos contaminados (PASCALICCHIO, 2002). Os metais tóxicos possuem

características diferentes de outros reagentes porque não são sintetizados nem destruídos pelo metabolismo humano. Esses compostos são altamente reativos do ponto de vista químico, o que explica a dificuldade de encontrá-los puros na natureza. Normalmente, apresentam-se em concentrações muito baixas, associados a outros elementos químicos, formando minerais em rochas (BAIRD, 2002).

Segundo Ribeiro et al. (2009), os metais tóxicos são classificados como:

- a) Elementos essenciais – ferro, potássio cálcio, zinco, cobre níquel, sódio e magnésio;
- b) Micro-contaminantes ambientais – arsênio, titânio, estanho, chumbo, mercúrio, alumínio, tungstênio e cádmio;
- c) Elementos essenciais e simultaneamente micro-contaminantes – cromo, ferro, zinco, cobalto, níquel e manganês.

Os metais estão originalmente distribuídos no ambiente em razão dos ciclos biogeoquímicos da matéria. O intemperismo dissolve rochas, podendo transportar metais para rios e lagos, solos adjacentes e oceanos. Os ciclos biológicos incluem a bioacumulação e a biomagnificação, os quais transformam teores normais em concentrações tóxicas, para diferentes espécies da biota e para o próprio homem (TAVARES; CARVALHO, 1992). Alguns metais essenciais aos organismos são o ferro, cobre, zinco, cobalto, manganês, cromo, molibdênio, vanádio, selênio, níquel e estanho, os quais participam do metabolismo e formação de muitas proteínas, enzimas, vitaminas, pigmentos respiratórios (como o ferro da hemoglobina humana ou o vanádio do sangue das ascídias). No entanto, quando ocorre o aumento destas concentrações, normalmente acima de dez vezes, efeitos deletérios começam a surgir, sendo que a toxicidade de cada metal varia de acordo com a espécie (LELES, 2010).

### **2.2.1 Contaminação ambiental por metais e seus efeitos**

A preocupação com o meio ambiente tem surgido de modo significativo há apenas poucas décadas. Dia após dia, essa preocupação vem tomando novas dimensões dentro dos mais diversos setores da sociedade mundial. A importância da preservação dos recursos hídricos leva à necessidade de monitorar e controlar a contaminação desses ambientes (PINTO, 2005).

Um dos problemas ambientais enfrentados na atualidade é a poluição química gerada pelas indústrias, as quais se apresentam negligentes frente a essa problemática, tornando-as

um dos principais responsáveis pela poluição ambiental. Entre os poluentes mais prejudiciais ao ecossistema estão os metais tóxicos, sendo que um de seus efeitos mais preocupantes é a sua capacidade de bioacumulação nos organismos vivos (LELES, 2010).

O aumento das atividades industriais tem intensificado o problema da poluição do meio ambiente e a deterioração dos ecossistemas pelo acúmulo de metais tóxicos, que são frequentemente lançados nos ambientes aquáticos (KIELING et al., 2009). A crescente quantidade de indústrias atualmente em operação tem causado o acúmulo de grandes concentrações de metais nos corpos hídricos. Isto ocorre, pois grande parte das indústrias não tratam adequadamente seus efluentes antes de lançá-los no ambiente. Os metais, quando lançados na água, agregam-se a outros elementos, formando diversos tipos de moléculas, as quais apresentam diferentes efeitos nos organismos devido a variações no grau de absorção pelos mesmos (MOUNTOURIS et al., 2002).

Os metais tóxicos, quando em elevada concentração, merecem maior preocupação, principalmente por não serem degradáveis, permanecendo por longos períodos no ambiente (COTTA et al., 2006). Quando em excesso, os metais tóxicos podem inibir o crescimento das plantas e causar alterações nas comunidades vegetais, como também exercer efeitos adversos sobre os microrganismos, interferindo nas funções do ecossistema, com consequências ao meio ambiente e à saúde humana (CARNEIRO et al., 2001).

Os resíduos contendo metais tóxicos possuem alto poder de contaminação e, com facilidade, atingem os lençóis freáticos ou mesmo reservatórios e rios, que são as fontes de abastecimento de água das cidades (SALGADO, 2003). Os perigos deste tipo de contaminações na água não se restringem apenas ao consumo direto dessa água contaminada, mas também às consequências diretas na cadeia alimentar quando nos referimos a tóxicos bioacumulativos (JESUS et al., 2011).

Os efeitos acumulativos destes metais podem ser encontrados em solos, plantas, corpos de água (subterrâneos ou superficiais) e animais, acarretando problemas ao longo da cadeia alimentar, onde o predador apresenta maior concentração destes metais. Os seres vivos necessitam de pequenas quantidades de alguns desses metais, como o cobre e o manganês que realizam diversas funções em nosso organismo. Já, outros metais tóxicos como o mercúrio, chumbo e cádmio não possuem nenhuma função dentro do organismo e a sua acumulação pode provocar graves problemas, afetando vários órgãos e alterando os processos bioquímicos (CARLETTO et al., 2011).

Alguns metais tóxicos possuem efeito deletério, ocasionando sérios transtornos à saúde humana quando ingeridos em elevadas doses (GUEDES et al., 2005). Assim, a

contaminação por metais está diretamente associada à sua biodisponibilidade, podendo ser potencializada por fontes alimentadoras da poluição como, por exemplo, uma indústria localizada nas imediações de recursos hídricos (MANAHAN, 1994 apud GUEDES et al., 2005). Metais tóxicos em excesso podem causar muitas doenças e sérios problemas fisiológicos. O contato com a pele pode causar dermatite alérgica e, mais raramente, provocar ulcerações na pele formando cicatrizes, perfurações do septo nasal, câncer, distúrbios afetivos, irritação neuromuscular, cefaléia, náuseas e desmaios. Há também suspeitas de que possam afetar o sistema imunológico de seres humanos (JIMENES et al., 2004). Alguns desses metais são capazes de provocar efeitos tóxicos agudos e câncer (BATISTA; FREIRE, 2010).

Os íons metálicos possuem uma alta toxicidade ao ser humano em concentrações inadequadas, podendo causar diversas doenças e distúrbios (JANEGITZ et al., 2007). Os metais tóxicos quando absorvidos pelo ser humano se depositam no tecido ósseo e gorduroso ocasionando o deslocamento de minerais nobres dos ossos e músculos para a circulação. Esse processo pode provocar doenças tais como anemia, doença renal, distúrbios na reprodução e danos neurológicos (TONANI, 2008).

Os metais tóxicos possuem diversos mecanismos de ação, exercendo seus efeitos tóxicos ao combinar-se com um ou mais grupos reativos essenciais para funções fisiológicas normais. Um dos principais efeitos tóxicos desses elementos é a ação exercida sobre as estruturas das proteínas, muitas delas com funções enzimáticas, causando uma alteração nas atividades das enzimas, afetando o metabolismo, membranas celulares e organelas. A influência destas substâncias ocorre através de mecanismos complexos, como: interação com metais essenciais por similaridade eletrônica, formação de complexos entre o metal e as proteínas, inibição enzimática de proteínas com grupos sulfidrilas e comprometimento na função de organelas celulares como mitocôndrias e lisossomos (FERRER, 2003 apud SENGER, 2009).

Pelo fato dos metais serem biocumulativos, há uma crescente exigência por parte da sociedade e de órgãos públicos no sentido de diminuir esta contaminação a níveis toleráveis pelos organismos sujeitos ao contato com tais contaminantes e, conseqüentemente, uma tendência em se aprovar uma legislação ambiental cada vez mais rigorosa (DAL BOSCO et al., 2004). Dentre os diferentes contaminantes químicos, o estudo dos metais vem sendo considerado, mundialmente, como prioritário nos programas de promoção da saúde, visto que dependendo da dose e da forma química em que se encontram, podem ocasionar sérios danos ao sistema biológico dos seres humanos, ocasionando o surgimento de doenças (CELERE et al., 2007).

### 2.2.2 Toxicidade do cromo

O cromo é um metal cinza aço, com forma cristalina cúbica, sem odor e muito resistente a corrosão. O cromo é o sétimo mais abundante metal na Terra como um todo. O metal não é encontrado livre na natureza (SILVA; PEDROSO, 2001). Segundo Ribeiro et al. (2009), o cromo é um metal de transição na tabela periódica, onde está localizado no sexto grupo e quarto período. De acordo com Leles (2010), o metal cromo é encontrado em nove estados de oxidação, variando desde -2 até +6, sendo que somente o cromo (VI) e o cromo (III) estão presentes de forma estável no ambiente. Apresenta cor brilhante, prateado metálico (Figura 5). Na temperatura ambiente, não se oxida facilmente. Por isso é muito utilizado no ramo da metalurgia para se obter um acabamento brilhante e uma maior resistência a corrosão (RIBEIRO et al., 2009).

As propriedades químicas e físicas do cromo estão representadas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1: Propriedades químicas do cromo

<b>Propriedades Químicas do Cromo</b>	
Nome e símbolo	Cromo, Cr
Número atômico	24
Classe e série químicas	Metal de transição
Grupo, Período, Bloco	6,4,D
Densidade	7,140 g/cm <sup>3</sup>
Dureza (Mohs, Vickers)	8,5 e 1060 MPa
Massa atômica	51.9961 g/mol
Raio atômico (calculado)	166 pm
Raio covalente	127 pm
Configuração eletrônica	[Ar] 3d <sup>6</sup> 4s <sup>2</sup>
Elétrons (nível de energia)	2, 8, 13, 1
Estados de oxidação (óxido)	6, 4, 3, 2 (ácido forte)
Estrutura cristalina	cúbica centrada no corpo

Fonte: Adaptado de RIBEIRO et al. (2009)

Tabela 2: Propriedades físicas do cromo

<b>Propriedades Físicas do Cromo</b>	
Estado da matéria	sólido
Ponto de fusão	1907°C
Ponto de ebulição	2944°C
Volume molar	$7.23 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{mol}$
Entalpia de vaporização	344,3 kJ/mol
Entalpia de fusão	16,9 kJ/mol
Pressão de vapor	990 Pa at 2130 K
Velocidade do som	5940 m/s em CNTP

Fonte: Adaptado de RIBEIRO et al. (2009)

Figura 5: Cromo metálico



Fonte: CHANG (1994) apud PIMENTEL (2003)

As consequências ambientais do aumento nas concentrações de cromo incidem principalmente sobre espécies aquáticas desde algas até organismos superiores por difusão passiva. Normalmente o cromo acumula-se nas guelras, brônquios, vísceras cerca de 10 a 30 vezes mais, comparados ao acúmulo no coração, pele, escamas e músculos. Fatores ecológicos, o estado da espécie e sua atividade, podem determinar a bioacumulação (RIBEIRO et al., 2009).

A toxicidade do cromo depende da espécie química e seus efeitos estão associados à forma química e exposição, entretanto, todas as formas de cromo podem ser tóxicas em grandes concentrações, sendo a hexavalente cerca de cem vezes mais tóxica do que a trivalente (RIBEIRO et al., 2009; LIU et al., 1999 apud PIMENTEL, 2003). Na forma

trivalente o cromo é essencial ao metabolismo humano e, sua carência causa doenças e na forma hexavalente é tóxico e cancerígeno (MUNIZ et al., 2006).

Os compostos de cromo no estado de oxidação +6 são oxidantes fortes, e parte destes compostos irritam os olhos, a pele e as mucosas, podendo quando a exposição é crônica, provocar danos permanentes nos olhos (GILING; PÉREZ, 2001 apud MUNIZ et al., 2006). Praticamente todos os compostos de Cr (VI) apresentam grande poder mutagênico devido seu acesso direto as células e por ser um grande oxidante (RIBEIRO et al., 2009). Os compostos de cromo hexavalente como cromatos, dicromatos e particularmente o ácido crômico, são extremamente tóxicos e a ingestão de pequenas quantidades pode ser fatal (KORZENOWSKI, 2007).

Segundo Korzenowski (2007), o cromo hexavalente forma uma grande variedade de oxicompostos como: cromato, dicromato, tricromato, tetracromatos, cromato básico e oxihalogênio complexos, todos são potentes agentes oxidantes. Os mais importantes, industrialmente, são o cromato e o dicromato de sódio, a partir dos quais muitos outros compostos são produzidos. As principais aplicações são em oxi-redução e oxidação da matéria orgânica.

O cromo (VI) existente no meio ambiente é quase todo proveniente das atividades humanas, originando-se de emissões das fabricações de cimento, fundições, soldagem, mineração de cobre, lixos urbanos e industriais, incineração, utilização em curtumes e fertilizantes, entre outros. Nestas regiões o solo e a água podem apresentar teores acima do permitido, principalmente, devido ao mau descarte desse elemento pelas atividades industriais. Os resíduos possuem alto poder de contaminação, quando não são convenientemente tratados e simplesmente abandonados em corpos d'água, aterros industriais ou mesmo lixeiras clandestinas (MUNIZ et al., 2006).

### **2.2.3 Cromo em efluentes**

Segundo Tonietto (2006), a descarga de metais tóxicos em corpos aquáticos receptores pode promover alterações significativas nos comportamentos físico, químico e biológico, tanto do corpo receptor, como do próprio metal. Essas alterações podem ser divididas em duas amplas categorias: (a) efeito do ambiente sobre o metal, e (b) efeito do metal sobre o ambiente. A primeira categoria enfatiza condições nas quais as águas receptoras podem influenciar o comportamento e a toxicidade dos metais. Tais condições incluem a distinção da entrada de material antropogênico e geoquímico, qualidade dos efluentes domésticos e



industriais, concentração de ligantes e teores de sólidos suspensos. O efeito do metal na resposta biológica é enfatizado na segunda categoria. Dependendo das condições ambientais, o metal pode variar a densidade, a diversidade, a estrutura da comunidade e a composição das espécies de populações. O grau de variação dependerá amplamente da concentração de metais na água e, igualmente, no sedimento. As mudanças nas características do meio aquático pelo aporte de espécies metálicas antropogênicas podem provocar efeitos deletérios à biota aquática.

O cromo é um metal crítico entre os metais tóxicos devido à sua excessiva produção e à pluralidade de etapas existentes no seu tratamento. Dentre essas etapas, o tratamento do cromo hexavalente é essencial. O tratamento mais freqüente corresponde à redução do cromo hexavalente através do uso de redutores em meio ácido (PIMENTEL, 2003).

Os efluentes líquidos das indústrias que utilizam processos com cromo geram um efluente altamente tóxico e de difícil tratamento. A disposição desses efluentes gera grandes quantidades de cromo no ambiente, e, portanto merece especial atenção, pois contém principalmente cromo na forma hexavalente (KORZENOWSKI, 2007).

A presença de cromo em efluentes industriais é a principal preocupação das indústrias. O uso em larga escala deste metal, utilizado amplamente em indústrias de couro, metalurgia, galvanoplastia, dentre outras, tem resultado em uma liberação considerável deste referido metal, sob a forma de resíduos industriais, para o meio ambiente. Para avaliar o impacto dos efluentes contendo cromo, é conveniente conhecer as concentrações de cromo que podem ser esperadas como “*background*” natural. Em princípio todos os elementos químicos estão presentes em todas as rochas naturais, porém em concentrações mínimas (BAYER, 2005).

Efluentes contendo cromo não podem ser descartados diretamente em mananciais aquíferos ou em rede de esgoto. A tecnologia atualmente empregada para a remoção do cromo total compõe-se basicamente de duas etapas: redução de Cr(VI) a Cr(III) utilizando-se agentes químicos redutores e a posterior precipitação do Cr(III) na forma de hidróxidos. A redução do Cr(VI) a Cr(III) é uma etapa fundamental no processo uma vez que o primeiro é bastante móvel na natureza, não sendo facilmente adsorvido ou precipitado. Diante da grande variedade de fontes geradoras de efluentes contendo Cr (VI), o desenvolvimento de novas tecnologias para remoção desse elemento vêm sendo intensamente estudadas (RUOTOLO; GUBULIN, 2010).

### 2.3 Legislação ambiental

A legislação ambiental aplicável ao regramento dos limites máximos permissíveis para lançamento de efluentes contendo metais é de suma importância para manter a qualidade dos recursos hídricos e o equilíbrio dos ecossistemas, sendo um instrumento essencial e norteador das estratégias de controle da poluição, tanto em nível do poluidor, quanto dos órgãos ambientais (VON SPERLING, 1998).

Para Montanher (2009), países do mundo inteiro possuem legislação própria que regulamentam os padrões de qualidade da água, de acordo com a finalidade a que é destinada. Os efluentes industriais também devem atender às legislações específicas antes de serem descartados. Essas legislações estabelecem valores máximos para uma série de parâmetros biológicos, físicos e químicos. A legislação ambiental no Brasil começou a ser estabelecida na década de 80, quando muitos dos representantes de grupos ambientalistas passaram a participar do governo e outros setores públicos. Atualmente as leis brasileiras de proteção ambiental são internacionalmente aceitas (TEDESCO, 2010).

No Brasil, a legislação que regulamenta o lançamento de efluentes é a resolução nº 357/2005 complementada pelas resoluções nº 397/2008 e nº 430/2011, todas do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) do Ministério do Meio Ambiente. No Estado do Rio Grande do Sul, os padrões de lançamento de efluentes metálicos são baseados no exposto na Resolução nº 128/2006 do Conselho Estadual do Meio Ambiente/RS (CONSEMA/RS). A Tabela 3 apresenta um comparativo dos padrões de lançamento de efluentes definidos na Resolução nº 430/2011 do CONAMA e na Resolução nº 128/2006 do CONSEMA/RS, para alguns metais.

O valor máximo de concentração de cromo hexavalente e trivalente em efluentes, de acordo com a resolução 430/2011 do CONAMA, é de 0,1 mg de cromo.L<sup>-1</sup> e 1,0 mg de cromo.L<sup>-1</sup>, respectivamente. No caso do Estado do Rio Grande do Sul, a Resolução nº 128/2006 do CONSEMA, estabelece o valor máximo de lançamento permitido de 0,1 mg de cromo.L<sup>-1</sup> para o cromo hexavalente e 0,5 mg de cromo.L<sup>-1</sup> para o cromo trivalente. Em âmbito internacional, existem legislações específicas que abordam a concentração máxima de lançamento desse metal para descargas em águas superficiais e esgotos, conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 3: Parâmetros para lançamento de efluentes contendo metais

Metal	Valores máximos de lançamento (mg.L <sup>-1</sup> )	
	CONAMA 430/2011	CONSEMA/RS 128/2006
Arsênio total	0,5	0,1
Cádmio total	0,2	0,1
Chumbo total	0,5	0,2
Cobre dissolvido	1,0	0,5
Cromo hexavalente	0,1	0,1
Cromo trivalente	1,0	0,5
Ferro dissolvido	15,0	10,0
Manganês dissolvido	1,0	1,0
Mercurio total	0,01	0,01
Níquel total	2,0	1,0
Prata total	0,1	0,1
Selênio total	0,30	0,05
Zinco total	5,0	2,0

Fonte: Adaptado: Resolução nº 430 (CONAMA, 2011); Resolução nº 128 (CONSEMA/RS, 2006).

Tabela 4: Limites legais de lançamento de cromo total em alguns países

País	Limites legais de lançamento de cromo (mg.L <sup>-1</sup> )	
	Águas superficiais	Esgotos
Áustria	4,0	15
Brasil	0,5	0,5
Espanha	2,0	4,0
França	1,0	-
Itália	2,0	4,0
Portugal	2,0	2,0

Fonte: Adaptado de TAHIR; NASEEN (2007).

## 2.4 Processos de remoção de metais tóxicos de efluentes

Atualmente, tem crescido o número de tecnologias desenvolvidas que buscam a eficiência no processo de remoção de íons metálicos tóxicos. Diversos métodos podem ser

empregados no tratamento de efluentes líquidos contendo metais tóxicos, entre eles, pode-se citar como os mais importantes métodos: filtração com membranas, precipitação química, adsorção, eletrodeposição (CARVALHO, 2006; LUNARDI, 2009).

A filtração e a precipitação são eficientes na remoção de altas concentrações de íons metálicos, mas ineficientes quando se trata de metais traço (PADILHA et al., 1997; SCHMUHL; KRIEG, 2001 apud CARVALHO, 2006). A adsorção é ineficiente na remoção destes metais em soluções bastante concentradas (CARVALHO, 2006). A precipitação química é usada principalmente para remoção de metais tóxicos de resíduos aquosos na forma de hidróxidos, sulfetos e carbonatos (CARVALHO, 2006).

Uma outra técnica que vem sendo amplamente estudada é a troca iônica por quelação, a qual apresenta a vantagem de remover íons específicos, como os de metais tóxicos, quando na presença de grandes quantidades de íons de metais alcalinos e alcalino-terrosos (CARVALHO, 2006).

Os processos mais conhecidos empregados no tratamento químico de efluentes são a precipitação química na forma de hidróxidos, carbonatos ou sulfetos e a oxi-redução. Todos os processos que envolvem a precipitação dos íons metálicos operam sob os mesmos princípios químicos, ou seja, um reagente alcalino - hidróxido, carbonato ou sulfeto é adicionado ao efluente a ser tratado, reduzindo a solubilidade do constituinte metálico e favorecendo assim a sua precipitação, ou seja, promovendo a alteração do equilíbrio químico das espécies que deseja-se remover (ZAMPIM et al., 2009).

Até alguns anos atrás os métodos tradicionais existentes para o tratamento de efluentes contendo metais eram considerados eficazes na resolução de problemas ambientais. Atualmente, constata-se que essa medida os transfere de um local para outro (ANUSHREE, 2004). Uma consciência ambiental tem vindo a aumentar, devido ao alto custo de armazenamento deste tipo de resíduos, à competitividade do mercado, a pressões populares, à ênfase na qualidade do produto e ao reconhecimento do esgotamento dos recursos naturais e ao cumprimento das metas legais (ANUSHREE, 2004).

Todos estes fatores obrigaram as indústrias a mudanças para métodos de produção mais limpos, impulsionando o desenvolvimento de sistemas de tratamento com melhor desempenho ambiental; mais eficientes e de menor baixo custo (MALIK et al., 2005). Ainda que neste âmbito se consiga uma redução da quantidade de águas residuais contaminadas com metais, não é possível a sua total eliminação, sendo urgente o desenvolvimento de tecnologias mais eficazes e econômicas no seu tratamento. Neste contexto, surgem como alternativa os

processos biológicos como, por exemplo, a biofixação (QUINTELAS, 2007 apud VIEIRA, 2009).

## 2.5 Algas e microalgas

As algas compreendem vários grupos de seres vivos aquáticos e autotróficos, ou seja, que produzem a energia necessária ao seu metabolismo através da fotossíntese. Podendo ser divididas em dois grandes grupos: microalgas e macroalgas. As macroalgas marinhas são mais populares por serem maiores e visíveis a olho nu. Já as microalgas se referem a microrganismos unicelulares algais que têm o corpo formado por um talo, isto é, desprovido de raiz, caule e folhas, e possuem clorofilas e/ou outros pigmentos fotossintéticos (HOLANDA et al., 2011).

As microalgas fazem parte de grupo muito heterogêneo de organismos (SCHMITZ et al., 2012). São predominantemente aquáticos e geralmente microscópicos unicelulares, podendo formar colônias, e apresentar pouca ou nenhuma diferenciação celular. Sua coloração variada é característica oportunizada pela presença de pigmentos e mecanismo fotoautotrófico. As microalgas consistem em uma variedade de organismos autotróficos, procarióticos ou eucarióticos. A estrutura unicelular das microalgas permite que elas convertam facilmente a energia solar em energia química (CARDOSO et al., 2011). Microalgas são organismos planctônicos presentes nos mais variados ambientes e desempenham uma importante função ecológica em função da sua capacidade de realizar fotossíntese (MONTROYA et al., 2011).

Filogeneticamente, as microalgas são compostas de espécies procarióticas ou eucarióticas, antigas ou mais recentes, conforme o período em que surgiram no planeta (RAVEN et al., 2007). O termo “microalgas” não tem valor taxonômico, uma vez que engloba micro-organismos algais com clorofila e outros pigmentos fotossintéticos capazes de realizar a fotossíntese oxigênica (PÉREZ, 2007).

Segundo Raven (1998) citado por Derner et al. (2006), no ambiente natural, assim como nos cultivos, o crescimento de uma população microalgal é resultado da interação entre fatores biológicos, físicos e químicos. Os fatores biológicos estão relacionados às próprias taxas metabólicas da espécie cultivada, bem como com a possível influência de outros organismos sobre o desenvolvimento algal. Quanto aos fatores físico-químicos, são principalmente reportados estudos sobre iluminação, temperatura, salinidade e disponibilidade de nutrientes.

Para Montoya et al. (2011), as microalgas são um dos organismos mais importantes para o desenvolvimento de processos biotecnológicos, uma vez que constituem um grupo diversificado de espécies, com aplicações na área química, farmacêutica e industrial.

A biotecnologia das microalgas tem sido desenvolvida para diferentes aplicações comerciais (CARDOSO et al., 2011). Para que espécies de microalgas possam produzir satisfatoriamente várias formas de energia e seja viável economicamente, é indispensável cuidados no processo e sistemas de cultivo dos microorganismos, considerando as peculiaridades de cada espécie, adaptação ao ambiente, bem como a disponibilidade de nutrientes (POSSATTO, 2009).

As microalgas são micro-organismos fotossintéticos, que combinam água e dióxido de carbono atmosférico com luz solar para produzirem várias formas de energia na produção de biomassa (polissacarídeos, proteínas, lipídios e hidrocarbonetos), que pode ser utilizada no desenvolvimento de biocombustíveis e suplementos alimentares, e também podem ser empregados na captura de dióxido de carbono da atmosfera (ANDRADE; COSTA, 2008; CHISTI, 2007). Para Cossich (2000), as populações naturais de algas podem responder prontamente a qualquer alteração do ambiente e têm sido usadas para monitorar o grau de poluição num ambiente aquoso. Sob este aspecto, a interação algas-metals tóxicos tem sido tradicionalmente examinada, sendo que, dentre os micro-organismos utilizados no processo de remoção de metais de soluções (biossorção) as microalgas se destacam em função da sua capacidade de reter e imobilizar metais (DOSCHI et al., 2007).

O número exato de espécies de microalgas ainda não é conhecido, mas muitas espécies já podem crescer em sistemas de cultivo (SCHMITZ et al., 2012). As microalgas existem em um variado número de classes e são distinguidas, principalmente, pela sua pigmentação, ciclo de vida e estrutura celular. As principais linhagens de microalgas em termos de abundância são: *a) Diatomáceas (Bacillariophyta)*, da qual existem aproximadamente 100.000 espécies, sendo considerada a espécie que domina o fitoplâncton dos oceanos, podendo ser encontrada em ambientes de água doce, apresenta sílica como constituinte da parede celular e a reserva de carboidratos se dá mediante óleo ou polímeros de carboidrato, conhecido como crisolaminarina; *b) Algas Verdes (Chlorophyceae, )* representadas por cerca de 17.000 espécies, são encontradas em sua grande maioria, em meio marinho ou em água doce. Sua produção energética se dá principalmente, em forma de amido; *c) Algas azuis (Cyanophyta)*, conhecidas por desempenharem papel importante na atmosfera: a fixação de oxigênio. Compreende cerca de 2.000 espécies, podendo ser encontrados em diversos ambientes; *d)*

*Algas Douradas (Chrysophyceae)* que possuem cerca de 1.000 espécies, com habitat predominantemente doce, são semelhantes às diatomáceas (RAVEN et al., 2007).

### 2.5.1 *Spirulina platensis*

A *Spirulina platensis* é uma microalga (cianobactéria), chamada de *Arthrospira platensis* ou mais comumente chamada de alga azul-verde, (DESMORIEUX; NADÈGE, 2005). De acordo com Tomaselli (1997) citado por León (2010), esta espécie foi classificada novamente, agora com o nome de *Arthrospira* sp., e aceita oficialmente em *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. No entanto, a denominação *Spirulina* permanece tanto comercialmente como em publicações científicas.

O gênero *Spirulina* compreende cianobactérias filamentosas com elevado teor de proteínas (MONTEIRO et al., 2010). Sua principal característica morfológica é a disposição dos tricomas multicelulares cilíndricos em uma hélice esquerda aberta ao longo de todo o comprimento (TOMASELLI, 1997 apud SCHMITZ et al., 2012). Trata-se de uma microalga unicelular que pode crescer em água doce, água salgada e água salobra, habitam em corpos de água tropical e subtropical caracterizados por elevados níveis de carbonato e bicarbonato sendo os ambientes alcalinos (pH em torno de 10) os mais propícios para seu crescimento (CAPELLI; CYSEWSKI, 2010). Essa microalga tem caráter termofílico, apresentando temperatura ótima de crescimento entre 35 e 38°C (LU et al., 2011). De acordo com Desmorieux e Nadège (2005), a *Spirulina* consiste em células que apresentam de 3,5 a 10 µm de largura alinhadas lado a lado e o filamento tem forma de espiral com diâmetro de 25 a 100 µm.

Segundo Bezerra et al. (2010), o teor de proteína da *Spirulina* oscila entre 50% e 70% de sua matéria seca. Levando em consideração o fator qualitativo, a proteína da *Spirulina* é completa, pois contém todos os aminoácidos essenciais e não essenciais (CAPELLI; CYSEWSKI, 2010). Outra característica importante é que a *Spirulina* é facilmente digerida, pois sua parede celular é composta de mucopolissacarídeos, açúcares simples e proteínas, o que a diferencia de outras algas que possuem celulose (BEZERRA et al., 2010).

A produção de *Spirulina* em massa teve início na década de 70, sendo que 70% da produção mundial destinam-se ao consumo humano (PINHO et al., 2010). Concomitante à sua produção em massa, pesquisas foram realizadas a fim de determinar o efeito das condições ambientais e do meio de cultura na produtividade e na obtenção de produtos químicos de interesse (MATSUDO et al., 2009).



O desempenho no crescimento de uma microalga é resultado da interação entre fatores biológicos, químicos e físicos (RAVEN et al., 2007). Para Richmond (2004) apud Schmitz et al. (2012), os fatores biológicos referem-se às próprias taxas metabólicas da espécie cultivada, quanto aos fatores físico-químicos, os principais são a luz, a temperatura, o pH, a salinidade e a disponibilidade de nutrientes. Não existe um meio de cultivo único para todas as espécies de microalgas, uma vez que cada uma tem suas necessidades específicas.

Conforme Jeamton et al. (2011), para o cultivo da *Spirulina* são necessários apenas alguns minerais essenciais para o crescimento, além de luz e dióxido de carbono. O metabolismo principal da *Spirulina platensis* é a fotossíntese, sendo a luz solar, sua principal fonte de energia. Por meio da fotossíntese, converte os nutrientes em matéria celular e libera oxigênio. Os nutrientes de que necessita são uma fonte de carbono, nitrogênio, fósforo, potássio, ferro e outros oligoelementos (VONSHAK, 1997).

O alto conteúdo de vitaminas, sais minerais, lipídeos, e em especial proteína, associados à diversidade de meio ambiente onde cresce faz com que a *Spirulina platensis* seja a cianobactéria mais estudada no mundo (OLIVEIRA, 2006).

Uma pesquisa bibliográfica, relacionada com algumas das possíveis aplicações ambientais da microalga *S. platensis* foi publicada na Revista CIATEC-UPF, conforme página inicial do artigo apresentada no Apêndice A (SCHMITZ et al., 2012).

## **2.6 Bioissorção de metais por algas**

Diversos materiais sorventes não convencionais têm sido objeto de estudos e estão sendo testados para a remoção de contaminantes orgânicos e íons de soluções aquosas, (CUNHA, 2006; CARMONA et al., 2005; DAL BOSCO et al., 2004), dentre eles algas, fungos, bactérias, resíduos agrícolas, lignina, musgos, turfas, etc (VEIMROBER, 2010). Estes sorventes alternativos devem apresentar características adequadas para sua implementação em escala industrial, tais como: altas capacidades de sorção, abundância e baixo custo, reduzindo conseqüentemente os gastos de manutenção/operação e potencializando a eficiência de remoção (VEIMROBER, 2010).

As populações de algas têm sido observadas há muito tempo como indicadores de balanços ecológicos e alterações nas condições nutricionais naturais, bem como de efeitos tóxicos de substâncias originadas de atividades humanas. As populações naturais de algas podem responder prontamente a qualquer alteração do ambiente e têm sido usadas para



monitorar o grau de poluição num ambiente aquoso. Sob este aspecto, a interação algas-metals tóxicos tem sido tradicionalmente examinada (COSSICH, 2000).

Por sua abundância e riqueza estrutural, as algas têm sido muito empregadas como biomassas na biossorção de metais tóxicos, substituindo as resinas convencionais. A complexidade e a heterogeneidade de polissacarídeos estruturais e de reserva conferem às diferentes divisões algáceas capacidade de acumulação de metais distintas (AMORIM, 2000). Segundo Silva (2000), diversas espécies de algas são conhecidas por sua capacidade de concentrar espécies metálicas de soluções e têm sido utilizadas como biossorventes de metais de efluentes industriais servindo de seqüestrador de metais tóxicos, ou na recuperação de metais preciosos.

De acordo com Pinotti e Segato (1991), lagoas com microalgas têm sido usadas extensivamente no tratamento de águas de despejo. As cianobactérias podem ser utilizadas no tratamento de águas residuais; desintoxicação biológica e controle de metais tóxicos em águas naturais ou em águas contaminadas industrialmente (OSWALD, 1988; LINCOLN e EARLE, 1990; MAEDA e SAKAGUCHI, 1990; GREENE e BEDELL, 1990 apud ABALDE et al., 1995). Muitos tipos de águas residuais, de origem doméstica, animal ou industrial, constituem um meio apropriado para o crescimento de microalgas, que crescem rapidamente nesses meios, convertendo a energia em matéria orgânica celular e produzindo calor. Esse calor é benéfico, pois acelera o tratamento microbiológico aeróbio e anaeróbio dos resíduos e, simultaneamente, acelera a morte de espécies patogênicas que possam estar presentes na água. A atividade fotossintética fornece oxigênio para oxidação microbiológica dos resíduos, bem como a incorporação fotossintética de CO<sub>2</sub> aumenta o pH do efluente para um nível letal para muitas bactérias e vírus patogênicos (RICHMOND, 1980 apud ABALDE et al., 1995).

As algas tornaram-se uma importante fonte de estudos para remoção de metais tóxicos presentes em efluentes, frente a sua capacidade de retenção e imobilização desses compostos (VILAR et al., 2011). Dentro desse cenário, a microalga *Spirulina platensis* ocupa lugar de destaque, visto que em estudos realizados, a microalga apresentou grande capacidade de remoção de íons metálicos de soluções aquosas (ARUNAKUMARA et al., 2007; DOSHI et al., 2007).

Aneja et al. (2010) avaliaram a biossorção de Pb<sup>+2</sup> e Zn<sup>+2</sup> de uma solução aquosa contendo diferentes concentrações desses metais, através da biomassa seca da *Spirulina sp.*, onde atingiram índices de biossorção de 82 % para Pb<sup>+2</sup> e de 90 % para Zn<sup>+2</sup>. Tedesco (2010) utilizou a *Spirulina platensis* para remoção de Cr<sup>+6</sup> de efluente sintético alcançando índices de remoção de até 92 %. Viacelli et al. (2008) estudaram o potencial da microalga *Spirulina*

*platensis* na remoção de Cd e Pb de efluente sintético, alcançando remoções na faixa de 98% e 99%, respectivamente. Dal Magro et al (2012) estudaram a biossorção de cromo (VI) pela *Spirulina platensis* viva, onde atingiram percentuais de remoção variando de 42% a 60,92% para concentrações iniciais de cromo (VI) de 11,7 mg. L<sup>-1</sup> e 3 mg. L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Outras algas tem sido utilizadas, a exemplo da alga *Sargassum sp.*, utilizada por Saravanan et al. (2009), que apresentou remoções de cromo e zinco de 65% e 53%, respectivamente. Gupta et al. (2001) estudaram a sorção de cromo (VI) utilizando biomassa de algas filamentosas do gênero *Spirogyra*, onde atingiram remoção de cerca de 14,7.10<sup>3</sup> mg de metal por kg de peso seco da biomassa com concentração inicial de 5 mg. L<sup>-1</sup>.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo apresenta-se a metodologia empregada para o estudo da bio sorção ativa (biomassa ativa) e passiva (biomassa inativa) através da microalga *Spirulina platensis*. O Quadro 2 apresenta uma síntese do estudo em função das variáveis dependentes (resposta) e independentes (entrada) para remoção e conversão do cromo (VI).

Quadro 2: Variáveis dependentes e independentes utilizadas no estudo de bio sorção de cromo

Etapa	Variáveis independentes	Variáveis dependentes
Bio sorção passiva (biomassa inativa)	Concentração de bio sorvente pH Tempo reacional Agitação Concentração inicial de cromo (VI) Pré-tratamento da biomassa	Concentração de cromo (VI) Concentração de cromo total pH final
Bio sorção ativa (biomassa viva) – biorreatores descontínuos alimentados	Concentração de biomassa na 1ª adição de cromo (VI) Concentração de cromo (VI) adicionada – mg. L <sup>-1</sup>	Concentração de biomassa (a cada 2 d) pH (a cada 2 d) Concentração de cromo (VI) no meio de cultivo (antes de cada nova adição) e de cromo total no tempo final Concentração de cromo (VI) e total na biomassa no tempo final

#### 3.1 Ensaios de bio sorção passiva

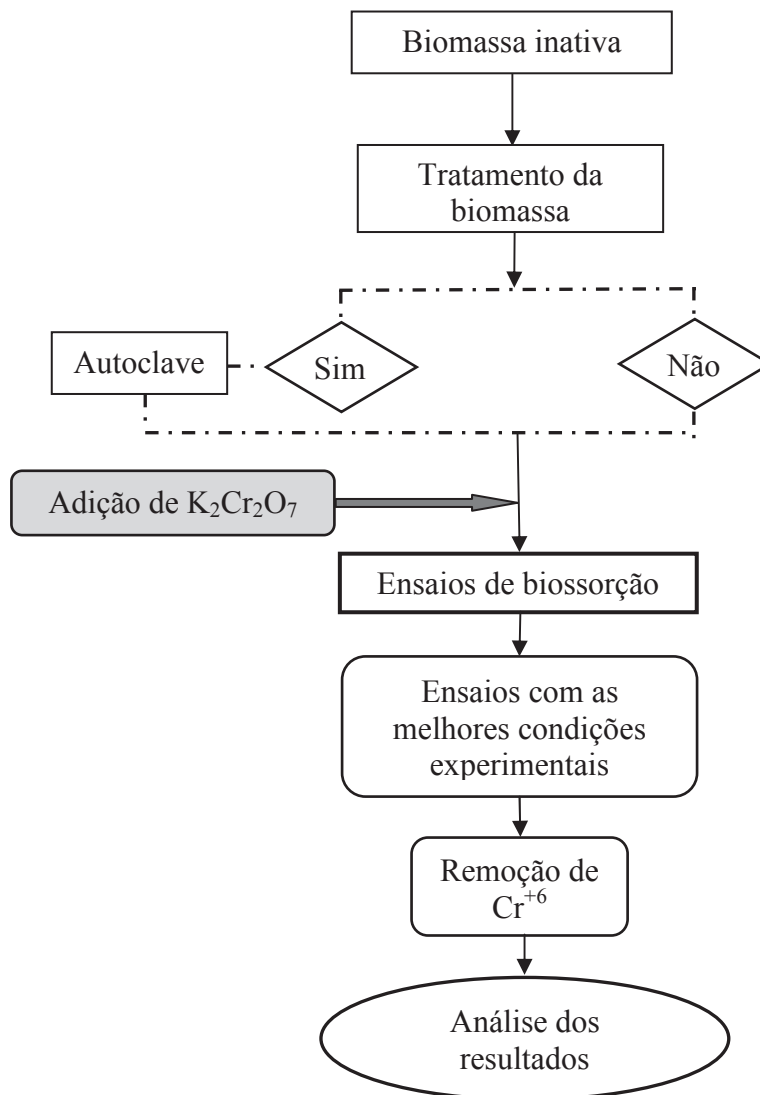
Os ensaios experimentais de bio sorção passiva utilizando a biomassa inativa foram realizados de acordo com as etapas descritas no fluxograma da Figura 6.

Para realização dos ensaios de bio sorção passiva foi utilizada a biomassa inativa da microalga *Spirulina platensis* cepa LEB-18.

Os ensaios de bio sorção foram desenvolvidos em erlenmeyers de 300 mL, utilizando-se soluções de dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) contendo 50 mg. L<sup>-1</sup> de cromo (VI) e 100 mg. L<sup>-1</sup> de cromo (VI), os quais foram submetidos a agitações variáveis em agitador orbital (100 rpm e 150 rpm – mesa agitadora refrigerada marca OXYLAB, modelo OXY-305), com temperatura constante de 30 °C, durante períodos de tempo (1 h e 3 h) e concentrações de bio sorvente de 2,5 g. L<sup>-1</sup> e 5,0 g. L<sup>-1</sup> sendo utilizados pHs 5 e 9 (medidos em peagâmetro

marca DIGIMED, modelo DM-22). Foi realizado o tratamento da biomassa em autoclave a 121°C durante 20 min (autoclave vertical marca PRISMATEC, modelo CS) com o intuito de verificar a possibilidade de elevação dos índices de bioissorção, visto que, na sua forma natural, a biomassa da *Spirulina platensis* pode não apresenta todas as suas propriedades disponíveis para captação do metal (DOTTO et al., 2012).

Figura 6: Etapas desenvolvidas na pesquisa de bioissorção passiva com a microalga *Spirulina platensis*



A Tabela 5 apresenta o Planejamento Fatorial Fracionário (PFF)  $2^{6-2}_{IV}$  utilizado para verificar a influência das variáveis no processo bioissorção. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Tabela 5: Planejamento Fatorial Fracionário  $2^{6-2}_{IV}$  para avaliação das variáveis que apresentam influência significativa sobre o processo de biossorção passiva pela microalga

*Spirulina platensis*

Exp.	X <sub>1</sub> ([biossorvente] – g.L <sup>-1</sup> )	X <sub>2</sub> (pH inicial)	X <sub>3</sub> (Tempo reacional - h)	X <sub>4</sub> (agitação - rpm)	X <sub>5</sub> (Pré-tratamento)	X <sub>6</sub> ([inicial de cromo] – mg.L <sup>-1</sup> )
1	-1 (2,5)	-1 (5)	-1 (1)	-1 (100)	-1 (não)	-1 (50)
2	1 (5)	-1 (5)	-1 (1)	-1 (100)	1 (sim)	-1 (50)
3	-1 (2,5)	1 (9)	-1 (1)	-1 (100)	1 (sim)	1 (100)
4	1 (5)	1 (9)	-1 (1)	-1 (100)	-1 (não)	1 (100)
5	-1 (2,5)	-1 (5)	1 (3)	-1 (100)	1 (sim)	1 (100)
6	1 (5)	-1 (5)	1 (3)	-1 (100)	-1 (não)	1 (100)
7	-1 (2,5)	1 (9)	1 (3)	-1 (100)	-1 (não)	-1 (50)
8	1 (5)	1 (9)	1 (3)	-1 (100)	1 (sim)	-1 (50)
9	-1 (2,5)	-1 (5)	-1 (1)	1 (150)	-1 (não)	1 (100)
10	1 (5)	-1 (5)	-1 (1)	1 (150)	1 (sim)	1 (100)
11	-1 (2,5)	1 (9)	-1 (1)	1 (150)	1 (sim)	-1 (50)
12	1 (5)	1 (9)	-1 (1)	1 (150)	-1 (não)	-1 (50)
13	-1 (2,5)	-1 (5)	1 (3)	1 (150)	1 (sim)	-1 (50)
14	1 (5)	-1 (5)	1 (3)	1 (150)	-1 (não)	-1 (50)
15	-1 (2,5)	1 (9)	1 (3)	1 (150)	-1 (não)	1 (100)
16	1 (5)	1 (9)	1 (3)	1 (150)	1 (sim)	1(100)

A biomassa da microalga *Spirulina platensis* inativa foi obtida a partir de cultivos realizados em planta piloto localizada na cidade de Santa Vitória do Palmar – RS, cedidas pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande.

Após o processo de biossorção, as amostras foram centrifugadas durante 15 min a 6000 rpm (centrífuga refrigerada marca CIENTEC, modelo CT 5000R) e filtradas (papel filtro Whatman 40) para retirada da parte sólida e posterior determinação de cromo (VI) e realização dos cálculos da eficiência de remoção (%), conforme Equação 1.

$$\%remoção = \left(1 - \frac{C_f}{C_0}\right) \times 100 \quad (1)$$

Sendo:

$C_f$  = concentração final ( $\text{mg.L}^{-1}$ )

$C_0$  = concentração inicial ( $\text{mg.L}^{-1}$ )

A partir dos resultados do Planejamento Fatorial Fracionário  $2^{6-2}_{IV}$ , as variáveis que apresentavam maior influência no processo de biossorção de cromo (VI) foram testadas novamente com variações em torno do nível que apresentou maior remoção do metal pela biomassa, conforme Planejamento Experimental  $2^3$  com três pontos centrais apresentado na Tabela 6.

Considerando a possibilidade de ocorrência de dessorção do metal ligado a biomassa em função do tempo de contato, foi realizado ensaio de biossorção ao longo do tempo, para verificar a possibilidade de ocorrência do fenômeno, mantendo-se a concentração inicial de biomassa e de cromo (VI) constantes nos níveis das variáveis que apresentaram melhores resultados de remoção de cromo (VI) no Planejamento Fatorial Fracionário (Tabela 5). Foram feitas análises de cromo (VI) nos tempos de 10 min, 30 min, 1 h, 1,5 h, 2 h, 2,5 h, 3 h, 4 h, 5 h, 24 h e 48 h.

Tabela 6: Planejamento Experimental  $2^3$  com três pontos centrais para avaliação da remoção de cromo (VI) a partir das variáveis que apresentaram maior influência no processo biossortivo do PFF  $2^{6-2}_{IV}$

Exp.	$X_1$	$X_2$	$X_3$
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

$X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$ : variáveis mais influentes no processo de remoção de cromo (VI)

Com o intuito de construir a isoterma de adsorção do cromo (VI) pela biomassa inativa da microalga foram realizados ensaios variando-se a concentração de biomassa no meio e fixando-se o pH e a concentração inicial de cromo (VI) nos níveis que apresentaram melhores resultados nos ensaios anteriores, conforme apresentado na Tabela 7. O tempo utilizado para análise da remoção de cromo (VI) foi o tempo em que se alcançou a melhor remoção de cromo (VI) no teste de dessorção. Ao final do processo foi novamente medido o pH dos ensaios para verificar se o mesmo permaneceu constante, permitindo a isometria do processo.

Tabela 7: Dados utilizados para construção da isoterma

Exp.	[biossorvente] (g.L <sup>-1</sup> )	(pH inicial)	[inicial de cromo (VI)] (mg.L <sup>-1</sup> )
1	0,25	Fixo	Fixa
2	0,5	Fixo	Fixa
3	0,75	Fixo	Fixa
4	1,0	Fixo	Fixa
5	1,5	Fixo	Fixa
6	2,0	Fixo	Fixa
7	2,5	Fixo	Fixa
8	5,0	Fixo	Fixa

Para construção da isoterma foram utilizados os resultados da concentração de equilíbrio do metal na solução (quantidade de cromo (VI) ao final do ensaio obtido a partir da curva padrão predefinida) ( $C_e$  em mg.L<sup>-1</sup>) e do cálculo da quantidade de metal adsorvido na biomassa seca ( $C_{eq}$  em mg.g<sup>-1</sup>), calculados de acordo com a Equação 2. A temperatura do ensaio foi fixada em 30°C.

$$C_{eq} = \left( \frac{(C_o - C_e) \cdot V}{M} \right) \quad (2)$$

Sendo:

$C_o$  = concentração inicial do metal em solução (mg.L<sup>-1</sup>)

$C_e$  = concentração em equilíbrio do metal em solução (mg.L<sup>-1</sup>)

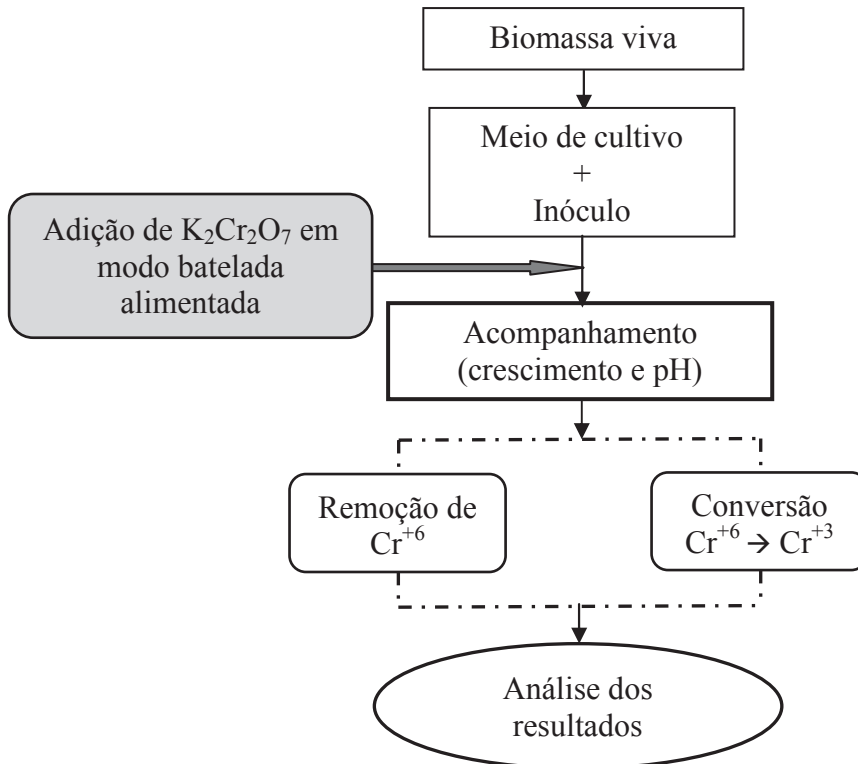
$V$  = volume da solução (L)

$M$  = massa de biossorvente (g)

### 3.2 Ensaios de bioissorção ativa

Os ensaios experimentais de bioissorção ativa (biomassa viva) foram realizados de acordo com as etapas descritas no fluxograma da Figura 7.

Figura 7: Etapas desenvolvidas na pesquisa com a biomassa ativa



#### 3.2.1 Microrganismo e manutenção do inóculo

Nos ensaios de bioissorção ativa foram utilizadas as cepas da microalga *Spirulina platensis* Leb-52 devido esta cepa ter apresentado melhores resultados em relação a cepa da *Spirulina platensis* Paracas em estudos realizados anteriormente (DAL MAGRO et al., 2012).

Os inóculos das microalgas foram mantidos em estufa termostaticada não estéril com condições controladas de aeração (bombas de diafragma), temperatura (~30°C) e luminosidade (1800 lux), utilizando como meio de cultivo o meio Zarrouk (ZARROUK, 1966), padrão para o cultivo desta microalga, diluído a 50% com água destilada estéril. A iluminação foi fornecida por lâmpadas fluorescentes de 20 W e a temperatura é mantida



através de resistências cujo aquecimento é controlado por termopares e ventiladores. A composição química do meio Zarrouk está apresentada no Anexo A.

### 3.2.2 Condições de cultivo

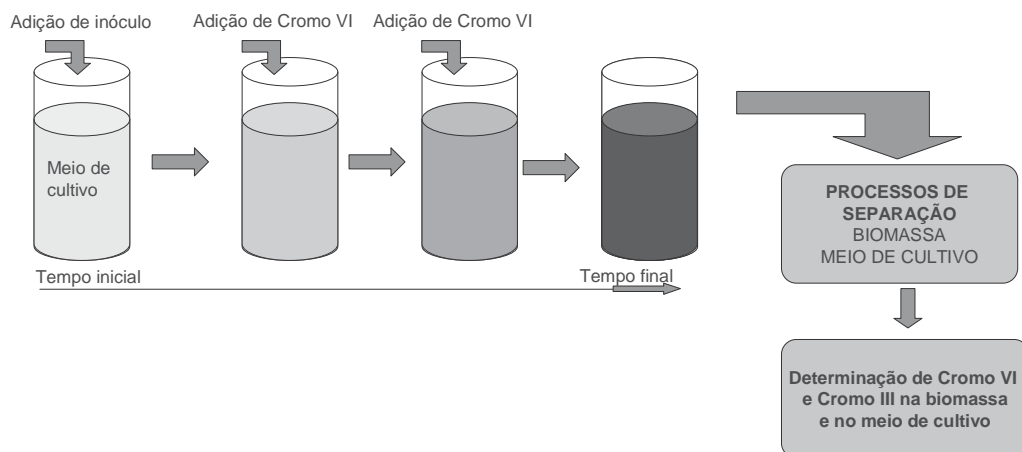
Os experimentos foram realizados em erlenmeyers de 2 L com volume inicial de meio de 1,8 L, com fotoperíodo de 12 h, e aeração constante.

Os meios de cultivo foram adicionados de cromo (VI) através de soluções padronizadas de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) em concentrações variáveis (5 mg.  $L^{-1}$  de cromo (VI) a 10 mg.  $L^{-1}$  de cromo (VI)), sendo o volume de solução de dicromato de potássio a ser adicionado calculado levando-se em consideração o volume dos cultivos no momento da adição.

A adição das soluções de dicromato de potássio foi realizada após os cultivos atingirem uma determinada concentração de biomassa (0,5 g.  $L^{-1}$  ou 1,0 g.  $L^{-1}$ ), em modo batelada alimentada, conforme delineamento experimental apresentado na Tabela 8. Após a primeira adição, as demais adições de cromo (VI) foram efetuadas em intervalos de quatro a cinco dias totalizando cinco adições de cromo (VI) ao final do cultivo em todos os ensaios, atingindo concentrações totais de cromo (VI) adicionado de 25 mg.  $L^{-1}$  (experimentos 1 e 2), 37,5 mg.  $L^{-1}$  (experimentos 5, 6 e 7) e 50 mg.  $L^{-1}$  (experimentos 3 e 4).

A operação dos biorreatores em modo batelada alimentada pode ser representada pelo fluxograma apresentados na Figura 8.

Figura 8: Esquema de operação de biorreator em modo batelada alimentada.



O estudo da biossorção utilizando a biomassa ativa foi realizado em modo batelada alimentada utilizando-se um Planejamento Fatorial Completo (PFC)  $2^2$  (Tabela 8).

Tabela 8: Planejamento Fatorial Completo  $2^2$  com três pontos centrais para o estudo da remoção de cromo em biorreator operado em modo batelada alimentada

Exp.	$X_1$ (Concentração de biomassa na 1ª adição de cromo VI – g.L <sup>-1</sup> )	$X_2$ (Concentração de cromo (VI) adicionada – mg.L <sup>-1</sup> )
1	-1 (0,5)	-1 (25)
2	1 (1,0)	-1 (25)
3	-1 (0,5)	1 (50)
4	1 (1,0)	1 (50)
5	0 (0,75)	0 (37,5)
6	0 (0,75)	0 (37,5)
7	0 (0,75)	0 (37,5)

Ao final dos cultivos foi avaliada a presença das espécies de cromo (VI) e cromo (III) no meio livre de células e na biomassa obtida, a fim de avaliar as remoções e a possibilidade de conversão de cromo (VI) em cromo (III), menos tóxico, pela microalga. A separação da biomassa do efluente foi realizada através de filtração, utilizando-se uma bomba de vácuo (marca MARCONI, modelo MA 058) e filtro de poliéster 180 fios (tela de serigrafia). A filtração do meio de cultivo foi realizada duas vezes a fim de obter-se maior separação da biomassa do efluente.

A biomassa foi coletada dos meios de cultivo, conduzida para secagem em estufa a 60°C até peso constante e submetida à digestão para extração do metal do meio intracelular, através do método 3050 B (USEPA, 1996) descrito no Anexo B. O efluente filtrado foi submetido à digestão para oxidação da matéria orgânica existente, através do método 3050 A (USEPA, 1996) descrito no Anexo C.

### 3.2.3 Acompanhamento dos parâmetros cinéticos de crescimento microalgal

O pH das amostras foi avaliado periodicamente, através da leitura em peagâmetro (marca DIGIMED, modelo DM-22). O crescimento microalgal foi avaliado a cada dois dias, através da leitura de absorvância dos cultivos em espectrofotômetro (marca PG

INTRUMENTS, modelo T60) a 670 nm e os resultados obtidos através de uma curva padrão de biomassa previamente confeccionada.

As concentrações máximas de biomassa ( $C_{\max}$ ) e a velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\max}$ ) para cada experimento foram obtidas a partir dos resultados de concentração de biomassa versus tempo.

A velocidade específica máxima de crescimento foi calculada a partir da integração da Equação 3, resultando na Equação 4.

$$\mu_{\max} = \left(\frac{1}{x}\right) \left(\frac{dx}{dt}\right) \quad (3)$$

$$\mu_{\max} = \frac{1}{\Delta t} \operatorname{Ln} \frac{X_2}{X_1} \quad (4)$$

Sendo:

$\mu_{\max}$  = velocidade específica máxima de crescimento ( $d^{-1}$ )

$X_1$  = Concentração de células no início da fase exponencial de crescimento ( $g.L^{-1}$ )

$X_2$  = Concentração de células no fim da fase exponencial de crescimento ( $g.L^{-1}$ )

$\Delta t$  = tempo de duração da fase exponencial de crescimento (d)

A partir das velocidades específicas máximas de crescimento foram calculados os tempos de geração (tg) através da Equação 5, o qual é definido como tempo necessário para a duplicação da biomassa.

$$tg = \frac{\ln 2}{\mu_{\max}} \quad (5)$$

Sendo:

tg = tempo de geração (d)

$\mu_{\max}$  = velocidade específica máxima de crescimento ( $d^{-1}$ )

### 3.2.4 Determinações de cromo

A concentração de cromo total na amostra foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica (espectrofotômetro ANALYST 200-PERKIN ELMER), realizada no Laboratório de Análises de Solo da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo.

O cromo (VI) foi determinado pelo método da 1,5- difenilcarbazida, utilizando-se uma fórmula em pó denominada *Chroma ver 3 chromium reagent*. Este reagente contém um tampão ácido combinado com 1,5- difenilcarbazida conferindo coloração vermelha-violeta quando o cromo (VI) está presente. Este método é uma adaptação do *Standard methods for the examination of water and wastewater*, da América Public Health Association (APHA, 2000) e está descrito no Anexo D.

O cromo (III) é determinado pela diferença entre o cromo total e cromo (VI), conforme apresentado na Equação 6. Isto se deve ao fato de que os complexos de cromo (III) em soluções aquosas apresentam relativa inércia cinética (RAO et al., 1980; COTTON et al., 1988 apud BARROS et al., 2001).

$$Cr_{total} = Cr(III) + Cr(VI) \quad (6)$$

Com o intuito de verificar a eficiência dos métodos analíticos na determinação das espécies de cromo, foi feito um balanço global de cromo recuperado em função da quantidade de cromo (VI) adicionada aos cultivos, somando-se as parcelas de cromo total, tanto na biomassa como no efluente, conforme demonstrado na Equação 7.

$$Cr(total)_{recuperado} = Cr(total)_{biomassa} + Cr(total)_{efluente} \quad (7)$$

Sendo:

$Cr(total)_{recuperado}$  = concentração de cromo total recuperado através das determinações analíticas em função da quantidade de Cr(VI) inicial adicionada em cada cultivo (mg).

$Cr(total)_{biomassa}$  = concentração de cromo total ao final do experimento na biomassa, considerando o peso da biomassa seca (mg).

$Cr(total)_{efluente}$  = concentração de cromo total ao final do experimento no efluente, considerando o volume final do cultivo (mg).

Na Equação 8 está apresentado o cálculo para obtenção do cromo total recuperado (%).

$$\%Cr(total)_{recuperado} = \left( \frac{Cr(total)_{recuperado}}{Cr_{inicial\_adicionado}} \right) \times 100 \quad (8)$$

Sendo:

$\% Cr(total)_{recuperado}$  = cromo total recuperado ao final do cultivo (%).

$Cr_{inicial\_adicionado}$  = total de cromo (VI) adicionado no experimento durante o cultivo (mg).

Com base no cromo total recuperado através das determinações analíticas em função da quantidade de cromo (VI) inicial adicionada em cada cultivo, foi calculada a quantidade de cromo (VI) removido do efluente (%) e a quantidade de cromo (VI) transformado em cromo (III), tanto no efluente quanto na biomassa (%).

A remoção de cromo (VI) do efluente foi obtida utilizando-se a Equação 9.

$$remoçãoCr(VI)_{efluente} = \left( \frac{Cr(total)_{recuperado} - Cr(VI)_{efluente}}{Cr(total)_{recuperado}} \right) \quad (9)$$

Sendo:

Remoção de  $Cr(VI)_{efluente}$  = cromo (VI) removido do efluente (mg).

$Cr(VI)_{efluente}$  = total de cromo (VI) remanescente no efluente ao final do cultivo (mg).

Os totais de cromo (III) determinado no efluente e na biomassa (%) ao final do experimento, considerando o cromo recuperado, estão apresentados nas Equações 10 e 11.

$$\%Cr(III)_{efluente} = \left( \frac{Cr(III)_{efluente}}{Cr(total)_{recuperado} - Cr(VI)_{efluente}} \right) \times 100 \quad (10)$$

Sendo:

$\% Cr(III)_{efluente}$  = cromo (III) existente no efluente ao final do cultivo (%).

$Cr(III)_{efluente}$  = cromo (III) remanescente no efluente ao final do cultivo (mg).

$$\%Cr(III)_{biomassa} = \left( \frac{Cr(III)_{biomassa}}{Cr(total)_{recuperado} - Cr(VI)_{efluente}} \right) \times 100 \quad (11)$$

Sendo:

$\% Cr(III)_{biomassa}$  = cromo (III) existente na biomassa ao final do cultivo (%).

$Cr(III)_{biomassa}$  = cromo (III) remanescente na biomassa ao final do cultivo (mg).

O Apêndice C apresenta um quadro com o resumo de todos os parâmetros avaliados no processo de biossorção ativa de cromo (VI) pela *Spirulina platensis*.

### 3.3 Análise dos resultados

Os resultados foram analisados em função das variáveis dependentes (respostas) e independentes em cada etapa do trabalho. A comparação entre médias foi realizada através do teste de Tukey a 5% de significância. A influência das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes no processo de biossorção de cromo (VI) pela biomassa da *Spirulina platensis* foi avaliada através da realização da análise de variância. A avaliação dos efeitos estimados das variáveis sobre as variáveis resposta e coeficientes de regressão dos modelos foram gerados através do *Software Statistica v. 6.0*, sendo feita a análise de variância através do módulo *Experimental Design*, utilizando-se nível de significância de 95%.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Biossorção passiva

Os resultados de remoção de cromo (VI) obtidos nos experimentos do Planejamento Fatorial Fracionário (PFF)  $2^{6-2}_{IV}$ , realizado através do processo de biossorção passiva pela microalga *S. platensis*, encontram-se apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Remoção de cromo (VI) no processo de biossorção passiva com a microalga *S. platensis* segundo os ensaios do PFF  $2^{6-2}_{IV}$

Exp.	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	Capacidade adsorptiva (mg.g <sup>-1</sup> )	Remoção de Cr(VI) (%)**	Coefficiente de variação (%)
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	12,18	61,97±7,45 <sup>e</sup>	12,02
2	1	-1	-1	-1	1	-1	5,90	60,09±4,44 <sup>de</sup>	7,38
3	-1	1	-1	-1	1	1	20,31	52,58±1,08 <sup>cde</sup>	2,06
4	1	1	-1	-1	-1	1	7,28	37,71±2,08 <sup>ab</sup>	5,50
5	-1	-1	1	-1	1	1	18,51	47,92±2,26 <sup>bcd</sup>	4,71
6	1	-1	1	-1	-1	1	9,91	51,30±2,89 <sup>cde</sup>	5,63
7	-1	1	1	-1	-1	-1	5,28	26,85±1,42 <sup>a</sup>	5,29
8	1	1	1	-1	1	-1	2,67	27,22±1,95 <sup>a</sup>	7,17
9	-1	-1	-1	1	-1	1	22,30	57,75±0,81 <sup>cde</sup>	1,41
10	1	-1	-1	1	1	1	9,59	49,64±0,36 <sup>bcd</sup>	0,73
11	-1	1	-1	1	1	-1	9,12	46,42±2,13 <sup>bc</sup>	4,59
12	1	1	-1	1	-1	-1	2,87	29,23±3,37 <sup>a</sup>	11,53
13	-1	-1	1	1	1	-1	10,01	50,93±4,97 <sup>cde</sup>	9,75
14	1	-1	1	1	-1	-1	5,19	52,82±3,02 <sup>cde</sup>	5,71
15	-1	1	1	1	-1	1	17,55	45,43±1,44 <sup>bc</sup>	3,18
16	1	1	1	1	1	1	9,20	47,66±1,53 <sup>bcd</sup>	3,22

\* Resultados de média±desvio padrão

\* Médias seguidas de letra iguais não apresentam diferença estatística significativa a 5% de significância

X<sub>1</sub> = quantidade de biossorvente (2,5 g.L<sup>-1</sup> ou 5 g.L<sup>-1</sup>); X<sub>2</sub> = pH inicial (5 ou 9); X<sub>3</sub> = tempo reacional (1 h ou 3 h); X<sub>4</sub> = agitação (100 rpm ou 150 rpm); X<sub>5</sub> = pré-tratamento (esterilizado ou não esterilizado); X<sub>6</sub> = concentração inicial de Cr(VI) (50 mg.L<sup>-1</sup> ou 100 mg.L<sup>-1</sup>)

Com base nos dados apresentados na Tabela 9, verifica-se que houve variação na eficiência de remoção de cromo (VI) em função das variações das condições experimentais. Observou-se que as maiores remoções de cromo (VI) (61,97%, 60,09% e 57,75%) foram atingidas nos experimentos 1, 2 e 9, respectivamente, demonstrando que os melhores resultados foram obtidos no menor valor de pH (5) e no menor tempo reacional (1 h).

Gokhale et al. (2009) realizaram ensaios de biossorção de cromo (VI) em colunas empacotadas utilizando a biomassa seca da *Spirulina platensis* como material adsorvente, atingindo, em condições experimentais otimizadas, com pH 1,5, agitação de 180 rpm e temperatura de 30 °C, a remoção de até 99% do metal para uma solução contendo 100 mg. L<sup>-1</sup> de cromo (VI). Dotto et al. (2012) prepararam nanopartículas de *Spirulina platensis* para remoção de cromo (VI) de uma solução de dicromato de potássio, utilizando pH variável (4-8) e concentração inicial de cromo (VI) também variável (50 mg.L<sup>-1</sup> a 250 mg.L<sup>-1</sup>). Em condições otimizadas de preparação da biomassa, os autores atingiram 99,1% de remoção de cromo (VI) com pH 4 e concentração metálica de 250 mg.L<sup>-1</sup>, evidenciando que a biomassa da microalga apresentou melhor eficiência para remoção de cromo (VI) quanto submetida a alta quantidade do metal em solução e baixo valor de pH.

Aneja et al. (2010) avaliaram a biossorção de Pb<sup>+2</sup> e Zn<sup>+2</sup> de uma solução aquosa contendo diferentes concentrações desses metais, através da biomassa seca da *Spirulina sp.*, atingindo índices de biossorção de 82 % para Pb<sup>+2</sup> e de 90 % para Zn<sup>+2</sup> para um tempo de contato de 15 min, porém, para o pH, os melhores resultados foram obtidos em valores elevados, diferentemente do atual trabalho onde os melhores resultados de remoção de cromo (VI) foram obtidos no menor nível do pH estudado (pH=5).

A Tabela 10 apresenta os efeitos estimados das variáveis estudadas no PFF sobre a eficiência (%) de remoção de cromo (VI) do efluente.

Na Tabela 10 observa-se que as variáveis concentração de biossorvente e concentração de cromo (VI) inicial, mesmo não sendo significativas estatisticamente ao nível de significância estudado ( $p > 0,05$ ), apresentaram efeitos elevados (-4,27 e 4,30 respectivamente). As variáveis que apresentaram maior influência na remoção de cromo (VI) foram o pH da solução seguido do tempo reacional (TR) ( $p < 0,05$ ).



Tabela 10: Efeitos estimados das variáveis do PFF 2<sup>6-2</sup><sub>IV</sub> para remoção de cromo (VI) com a biomassa de *Spirulina platensis* inativa

Fonte de variação	Efeitos estimados	Erro padrão	t (25)	p
Média	46,59	1,31	35,37	0,00
(1) [biossorvente]	-4,27	2,63	-1,62	0,11
(2) pH	-14,91	2,63	-5,66	0,00
(3) Tempo reacional	-5,65	2,63	-2,14	0,04
(4) Agitação	1,77	2,63	0,67	0,50
(5) Pré-tratamento	2,42	2,63	0,92	0,36
(6) [Cr(VI)] inicial	4,30	2,63	1,63	0,11

\* Sinal negativo: Os valores mais significativos foram os menores valores das variáveis

\* Sem sinal: Os valores mais significativos foram os maiores valores das variáveis

Em pH alcalino (pH 9,0) os percentuais de remoção foram inferiores do que em pH ácido (pH 5,0), sendo que essa variável apresentou efeito estimado negativo (-14,9152). Segundo Cossich et al. (2012), o cromo hexavalente pode apresentar-se como um cromato na forma aniônica ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ). Para Bayer (2005), Em solução aquosa, o cromo pode apresentar-se na forma catiônica como cromo (II) e (III) e aniônica com os ânions cromato ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) e dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ), no qual o cromo tem um estado de oxidação +6 (COSSICH et al., 2012; BAYER, 2005).

Segundo Wase e Forster (1997) citados por Vilar (2006), os íons metálicos podem ser divididos em três classes em relação ao efeito do pH no processo de biossorção, sendo: (a) a primeira classe liga-se a  $\text{pH} > 5,0$  e pode ser desorvida a  $\text{pH} 2,0$ . Nesta classe estão  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{UO}_2^{2+}$ . Esses cátions ligam-se a sítios ativos presentes no biossorvente; (b) a segunda classe é composta por espécies aniônicas, como  $\text{TcO}_4^-$ ,  $\text{PtCl}_4^{3-}$ ,  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{SeO}_4^{2-}$  e  $\text{Au}(\text{CN})_2^-$ , sendo que a medida que o pH diminui a carga da parede celular torna-se positiva, inibindo a aproximação de íons positivos e favorecendo a aproximação dos íons negativos, aumentando assim, a capacidade de biossorção desses íons. Este efeito pode ser explicado pelo aumento da ligação dos prótons aos sítios ativos, tornando a superfície carregada positivamente atraindo os ânions; (c) a terceira classe caracteriza-se por apresentar capacidade de biossorção independente da variação do pH, como  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  e  $\text{AuCl}_4^-$  (HOSEA et al., 1986 apud VILAR, 2006). De acordo com essas colocações, supõe-se que a forma aniônica do cromo (VI) pode ter prevalecido na solução durante os experimentos, favorecendo a remoção em pH ácido.

De acordo com Kuyucak e Volesky (1988), com a diminuição do pH grupos funcionais tais como amina e carbonila fornecem superfícies celulares carregadas positivamente, favorecendo a biossorção de metais presentes como espécies aniônicas. Para Blázquez et al. (2005) apud Fagundes-Klen et al. (2011), a queda na capacidade de adsorção em pH acima de 5,0 se deve à formação de complexos hidratados dos metais e alterações eletrostáticas na superfície da alga.

Comparando-se com outros trabalhos realizados, Fagundes-Klen et al. (2011) realizaram a modelagem do efeito do pH na biossorção de metais pela alga marinha *Sargassum filipendula*, constatando que a capacidade de biossorção dos íons  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  aumentaram significativamente com pH na faixa de 3,0 a 5,0. Aditya et al. (2012) utilizaram folhas secas e tratadas de *Erythrina Variegata Orientalis* para biossorção de cromo (VI) atingindo melhores índices de remoção em pH 3 (95,7% de remoção de cromo (VI)). Saqueto et al. (2006) estudaram a remoção de  $\text{Pb}^{2+}$  por diferentes aluminossilicatos, onde obtiveram altos percentuais de remoção de  $\text{Pb}^{2+}$  (em torno de 99%) de soluções aquosas em pHs 3,0 e 5,0. Visto que diversos autores obtiveram melhores índices de remoções de cromo (VI) em pHs ácidos, optou-se por seguir com os testes utilizando-se pHs abaixo de 5 para verificação do processo de biossorção de cromo (VI) pela biomassa morta da *S. platensis*.

Em relação ao tempo reacional (TR), observou-se que os resultados foram melhores em tempos inferiores (TR=1 h) (efeito de -5,6566), demonstrando que o aumento no tempo reacional reduziu os percentuais de remoção de cromo (VI). Esse fato levantou a suspeita de que poderia estar havendo a dessorção do metal que tinha aderido à superfície do biossorvente no início do processo.

Segundo Kotrba et al. (2011) a adsorção pode ser física (ligações fracas) e/ou químicas (ligações fortes que envolvem o íon metálico por complexação e/ou quelatação). O fato da obtenção de melhores resultados em menor tempo reacional pode significar que a ligação física predominou diante da ligação química, gerando ligações fracas entre o biossorvente e o metal, acarretando, quando em maior tempo reacional, a dessorção dos íons metálicos (KOTRBA et al., 2011).

A fim de explorar melhor o efeito do tempo reacional sobre a remoção de cromo (VI), foi realizado um ensaio para verificar se ao longo do tempo poderia haver queda significativa na eficiência de remoção de cromo (VI) indicando uma possível dessorção do metal. Para tanto, foi montado um ensaio com concentração de biossorvente de  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ , concentração inicial de cromo (VI) de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  e pH 5 e foi avaliada a remoção de cromo (VI) ao longo de 48 h, conforme apresentado na Tabela 11 e demonstrado graficamente na Figura 9.

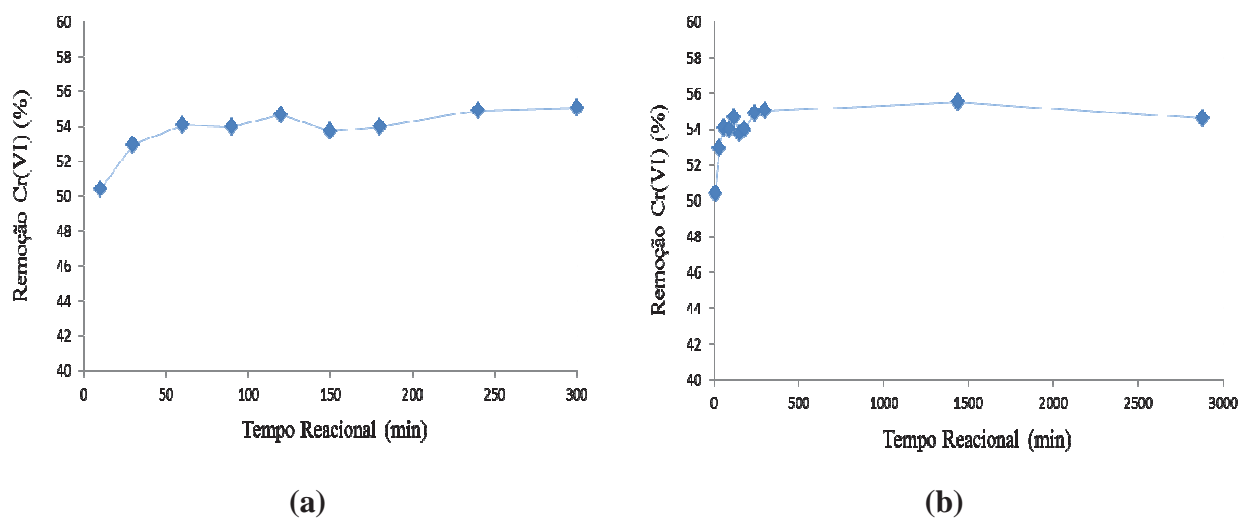
Tabela 11: Resultados de remoção de cromo (VI) em função do tempo de contato com a biomassa inativa da *S. platensis*

Exp.	Tempo (h)	pH	[Cr(VI)inicial] (mg.L <sup>-1</sup> )	Capacidade adsortiva (mg.g <sup>-1</sup> )	Remoção de Cr (VI) (%)**	Coefficiente de variação (%)
1	0,17	3	100	20,17	50,43±0,17 <sup>c</sup>	0,35
2	0,5	3	100	21,18	52,96±0,26 <sup>a</sup>	0,49
3	1	3	100	21,63	54,07±1,39 <sup>ab</sup>	2,58
4	1,5	3	100	21,59	53,97±0,48 <sup>ab</sup>	0,89
5	2	3	100	21,86	54,65±0,57 <sup>ab</sup>	1,04
6	2,5	3	100	21,49	53,73±0,31 <sup>a</sup>	0,57
7	3	3	100	21,59	53,87±0,57 <sup>ab</sup>	1,05
8	4	3	100	21,96	54,90±0,22 <sup>ab</sup>	0,40
9	5	3	100	22,02	55,05±0,26 <sup>ab</sup>	0,47
10	24	3	100	22,45	55,51±0,31 <sup>b</sup>	0,54
11	48	3	100	21,34	54,59±0,31 <sup>a</sup>	0,57

\* Resultados de média±desvio padrão

\*\* Médias seguidas de letra iguais não apresentam diferença estatística significativa a 5% de significância

Figura 9: Remoção de cromo (VI) do efluente em função do tempo de contato com a biomassa inativa da *S. platensis* (a) tempo de 10 min a 5 h (b) tempo de 10 min a 48 h



Observa-se na Tabela 11 e na Figura 9 que a maior eficiência de biossorção de cromo (VI) foi obtida no início do ensaio (remoção de 50,43% no tempo de 0,17 h), configurando a

predominância de ligação física entre o metal e a biomassa (ligação rápida) no início do processo (KOTRBA et al., 2011). Portanto, ao longo do tempo a eficiência de biossorção foi elevando-se gradativamente, atingindo 55,51% de remoção de cromo (VI) no tempo de 24 h, indicando que, além da ligação física inicial, pode ter ocorrido a ligação química entre o metal e o biossorvente, gerando elos fortes de ligação e reduzindo a probabilidade de ocorrência da dessorção do metal aderido a biomassa (KOTRBA et al., 2011).

Ao longo do experimento, observou-se que houve leve variação na remoção de cromo, obtendo-se maior eficiência de remoção de cromo (VI) no tempo de 24 h (55,51%) decaindo ao final do ensaio (48 h) para 54,59% de remoção de cromo (VI). Essa variação observada durante o ensaio é muito pequena para configurar a dessorção do metal, sendo, portanto, descartada essa hipótese.

Após constatar-se que não ocorreu a dessorção do metal ligado a biomassa em função do tempo de contato e que nos tempos de 1 h e 3 h utilizados no PFF  $2^{6-2}_{IV}$  não houve diferença estatística significativa ao nível de significância estudado (Tabela 11), fixou-se o tempo reacional no menor nível utilizado no ensaio inicial (TR=1 h), como forma de reduzir possíveis custos de processo que pode haver quando mantido o procedimento por maior tempo.

Na sequência, foram desenvolvidos novos ensaios variando-se as concentrações de biomassa, pH e concentração de cromo (VI) adicionado em torno dos níveis das variáveis que apresentaram maiores efeitos no processo de biossorção do Planejamento Fatorial Fracionário  $2^{6-2}_{IV}$  (Tabela 5), estando os resultados apresentados na Tabela 12.

A Tabela 12 demonstra que as maiores remoções de cromo (VI) foram obtidas quando se trabalhou com maior concentração de biomassa ( $3,5 \text{ g.L}^{-1}$ ) e de cromo (VI) inicial ( $150 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (Exp. 6 e Exp. 8), com remoções de 61,94% e 58,41%, respectivamente, sendo que o melhor resultado foi obtido com o menor valor de pH (Exp. 6, pH=3, 61,94% de remoção de cromo(VI)).

No experimento 7, com menor concentração de biomassa e maior concentração de cromo (VI) inicial, alcançou-se o menor índice de remoção de cromo (VI), de 51,47%, indicando que a alta concentração de cromo (VI) em baixos níveis de biossorvente pode comprometer o processo biossortivo, reduzindo o potencial de captação do metal pela biomassa, podendo haver a saturação da capacidade do biossorvente em função da saturação dos sítios ativos existentes na parede celular do mesmo. Segundo Mesquita et al. (2001), essa saturação representa uma desvantagem para o processo de biossorção passiva e o incremento demasiado de biomassa no processo, pode gerar uma quantidade grande de biomassa

contaminada, a qual necessita de tratamento e disposição final adequados para que não gere impactos negativos ao meio ambiente, comprometendo assim, o relação custo-benefício do processo (ROMERA et al., 2007; TEDESCO, 2010).

Nos demais experimentos, os índices de remoção apresentaram a mesma tendência dos experimentos 6 e 8, obtendo-se melhores resultados quando a concentração de biossorvente foi superior ( $3,5 \text{ g.L}^{-1}$ ) e o valor de pH inferior ( $\text{pH}=3$ ), porém, todos os experimentos apresentaram remoções semelhantes de cromo (VI), variando 51,47% (Exp. 7) a 61,94% (Exp. 6).

Tabela 12: Variáveis utilizadas e resultados obtidos conforme Planejamento Experimental 2<sup>3</sup> a partir das variáveis mais influentes do PFF 2<sup>6-2</sup><sub>IV</sub>

Exp.	X <sub>1</sub> [bios] (g.L <sup>-1</sup> )	X <sub>2</sub> pH	X <sub>3</sub> [Cr(VI) inicial](mg.L <sup>-1</sup> )	Capacidade adsortiva (mg.g <sup>-1</sup> )	Remoção de Cr (VI) (%)*	Coefficiente de variação (%)
1	-1 (1,5)	-1 (3)	-1 (50)	18,01	54,04±1,13 <sup>abc</sup>	2,10
2	1 (3,5)	-1 (3)	-1 (50)	7,94	55,58±0,35 <sup>bc</sup>	0,63
3	-1 (1,5)	1 (5)	-1 (50)	17,50	52,50±1,05 <sup>a</sup>	1,99
4	1 (3,5)	1 (5)	-1 (50)	7,41	51,88±0,52 <sup>a</sup>	1,01
5	-1 (1,5)	-1 (3)	1 (150)	56,46	53,46±0,38 <sup>cd</sup>	0,67
6	1 (3,5)	-1 (3)	1 (150)	26,55	61,94±0,55 <sup>e</sup>	0,84
7	-1 (1,5)	1 (5)	1 (150)	51,77	51,47±1,51 <sup>a</sup>	2,78
8	1 (3,5)	1 (5)	1 (150)	25,03	58,41±0,12 <sup>d</sup>	0,20
9	0 (2,5)	0 (4)	0 (100)	21,56	53,91±0,65 <sup>abc</sup>	1,21
10	0 (2,5)	0 (4)	0 (100)	21,37	53,42±0,48 <sup>ab</sup>	0,90
11	0 (2,5)	0 (4)	0 (100)	20,95	52,37±0,83 <sup>a</sup>	1,58

\* Resultados de média±desvio padrão

\* Médias seguidas de letra iguais não apresentam diferença estatística significativa a 5% de significância

X<sub>1</sub> = quantidade de biossorvente (g.L<sup>-1</sup>); X<sub>2</sub> = pH inicial; X<sub>3</sub> = concentração inicial de Cr(VI) (mg.L<sup>-1</sup>)

Para verificar as hipótese levantadas nessa discussão, foi realizada a análise estatística dos resultados para confirmar quais as variáveis que apresentaram maior influência no processo de biossorção passiva de cromo (VI) pela *S. platensis*, conforme apresentado na Tabela 13.

Tabela 13: Efeitos estimados das variáveis utilizadas no Planejamento Experimental  $2^3$  no processo de bioadsorção de cromo (VI) com a biomassa inativa de *S. platensis*

Fonte de variação	Efeitos estimados	Erro padrão	p
Média	55,92	0,23	0,00
(X <sub>1</sub> ) [biossorvente]	2,61	0,47	0,01
(X <sub>2</sub> ) pH	-2,71	0,47	0,01
(X <sub>3</sub> ) [Cr(VI)] inicial	4,84	0,47	0,00
X <sub>1</sub> .X <sub>2</sub>	-1,44	0,47	0,06
X <sub>1</sub> .X <sub>3</sub>	2,14	0,47	0,02
X <sub>2</sub> .X <sub>3</sub>	-0,09	0,47	0,85

\* Sinal negativo: Os valores mais significativos foram os menores valores das variáveis

\* Sem sinal: Os valores mais significativos foram os maiores valores das variáveis

A Tabela 13 confirma as hipóteses levantadas anteriormente, demonstrando que os níveis superiores das variáveis X<sub>1</sub> e X<sub>3</sub> (concentração de biossorvente e concentração inicial de cromo (VI)) apresentaram melhores resultados no processo biossorbitivo, visto que, seus efeitos foram positivos (2,6 e 4,8, respectivamente) e significativos estatisticamente ( $p < 0,05$ ). A variável X<sub>2</sub> (pH) também apresentou significância estatística ( $p = 0,010715$ ), porém, seu efeito foi negativo (-2,71) indicando que os melhores resultados foram obtidos no menor nível dessa variável estudado (pH=3). Para a interação entre as três variáveis estudadas, somente X<sub>1</sub>.X<sub>3</sub> foi significativa ao nível de significância estudado ( $p = 0,020351$ ), apresentando efeito positivo.

Visto isso, nota-se que os maiores índices das variáveis X<sub>1</sub> e X<sub>3</sub> (concentração de biossorvente e concentração inicial de cromo (VI)), quando analisados integrados, apresentam melhores resultados, porém, ressalta-se a discussão realizada anteriormente, sendo o maior nível da variável X<sub>3</sub> (concentração inicial de cromo (VI)) conjugado com o menor nível da variável X<sub>1</sub> (concentração de biossorvente) apresentou o menor índice de remoção de cromo (VI) (51,47%, vide Tabela 12).

Considerando a necessidade de promover um tratamento eficiente e adequado para efluentes contendo metais, gerando o mínimo de impactos negativos ao meio ambiente, optou-se por seguir com o estudo da isoterma de adsorção de cromo (VI) pela biomassa morta da *S. platensis*, utilizando-se a concentração inicial de 100 mg.L<sup>-1</sup> de cromo (VI) e pH 3, variando-se a concentração de biossorvente (0,25 g.L<sup>-1</sup> a 5,0 g.L<sup>-1</sup>) e mantendo-se a temperatura constante em 30°C. A Tabela 14 apresenta as variáveis utilizadas e os resultados

obtidos no estudo da isoterma de adsorção e a Figura 10 demonstra esses resultados de forma gráfica.

Tabela 14: Variáveis utilizadas para construção da isoterma e resultados de bioadsorção de cromo (VI) com a biomassa inativa de *S. platensis*

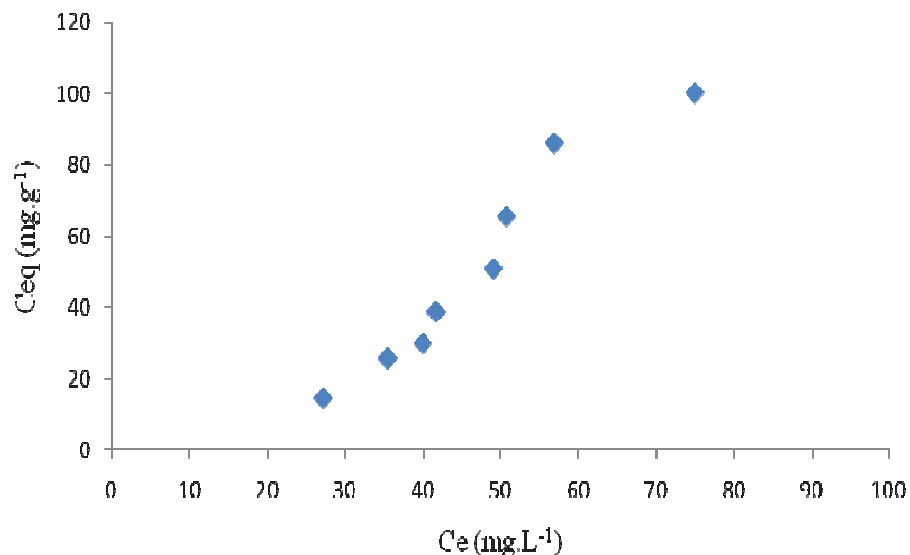
Exp.	[bios] (g.L <sup>-1</sup> )	pH inicial	[Cr(VI) inicial] (mg.L <sup>-1</sup> )	Ce (mg.L <sup>-1</sup> )	Ceq (mg.g <sup>-1</sup> )*	pH final
1	0,25	3	100	74,90	100,39 <sup>h</sup>	3,17
2	0,5	3	100	56,85	86,30 <sup>g</sup>	3,13
3	0,75	3	100	50,75	65,67 <sup>f</sup>	3,35
4	1,0	3	100	49,05	50,95 <sup>e</sup>	3,50
5	1,5	3	100	41,69	38,87 <sup>d</sup>	3,86
6	2,0	3	100	40,00	30,00 <sup>c</sup>	3,97
7	2,5	3	100	35,50	25,80 <sup>b</sup>	4,10
8	5,0	3	100	27,18	14,56 <sup>a</sup>	4,25

\* Médias seguidas de letra iguais não apresentam diferença estatística significativa a 5% de significância

Ce = concentração em equilíbrio do metal em solução (mg.L<sup>-1</sup>)

Ceq = quantidade de metal adsorvido na biomassa (mg.g<sup>-1</sup>)

Figura 10: Dados da isoterma de adsorção do cromo (VI) pela biomassa inativa da *S. platensis*



Observando-se a Figura 10, nota-se que a curva da isoterma apresentou-se desfavorável (Tipo III) de acordo com Devault (1943) citado por Vilar (2006), pois, sua forma apresenta uma tendência côncava, pressupondo-se que a adsorção é desfavorável, gerando

uma frente dispersiva e comprometendo a eficiência do processo. De acordo com o comportamento do processo de bioadsorção apresentado na Figura 10, verifica-se que o processo apresenta semelhança com a isoterma do Tipo S (1 ou 2) de acordo com a classificação das isotermas segundo Giles (GILES, 1960). Para Manosalva (2008), esse tipo de isoterma possui um ponto de inflexão, gerando uma curva em forma sigmoidal, sugerindo que a adsorção de metais na superfície do adsorvente é favorecida devido à forte interação com outras moléculas adsorvidas.

Porém, ao analisar-se a Tabela 14, percebe-se que, ao final do processo, o pH sofreu alterações em relação ao início do processo, uma vez que, iniciou-se todos os experimentos com pH constante (pH=3) e ao final o pH apresentou variações (3,17 – exp. 1 até 4,25 – exp. 8), elevando-se em todos os experimentos, sendo que, quanto maior a concentração de bioadsorvente mais alterado apresentou-se o pH atingindo, no experimento 8 (maior concentração de bioadsorvente – 5,0 g.L<sup>-1</sup>) o valor de 4,25.

Segundo Góes Filho (2010), o aumento do pH da solução pode indicar a desprotonação da fração orgânica, tornando a parede celular da biomassa negativa, ocasionando a repulsão entre os ânions (no caso cromato e dicromato) e a parede do adsorvente (SOUZA et al., 2006).

Para Pertusatti (2007), a ligação de um íon a superfície do bioadsorvente é influenciada pela heterogeneidade química e pelo comportamento da carga na sua superfície. Os prótons determinam o estado dos grupos funcionais, em baixos valores de pH os grupos estão protonados, sendo que em valores elevados de pH os grupos funcionais se dissociam e se tornam negativamente carregados, facilitando a ligação de prótons e repelindo ânions.

Conforme visto anteriormente, a elevação do pH reduz a capacidade de retenção de Cr (VI) pela biomassa morta da *S. platensis*, uma vez que, em solução aquosa, o cromo pode apresentar-se na forma aniônica com os ânions cromato (CrO<sub>4</sub>)<sup>2-</sup> e dicromato (Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)<sup>2-</sup>, no qual o cromo tem um estado de oxidação +6 (COSSICH et al., 2012; BAYER, 2005), sendo que com a elevação do pH as superfícies celulares tornam-se carregadas positivamente, reduzindo a bioadsorção de metais presentes como espécies aniônicas (CUYUCAK; VOLESKY, 1988 apud COSSICH, 2000).

No ensaio para construção da isoterma de adsorção houve variação do pH, uma vez que iniciou-se o processo com pH 3 e ao final do processo o pH chegou a 4,25 (Exp. 8 – Tabela 14). Essa variação pode ter comprometido a isometria do processo e sucessivamente o processo de retenção do metal pela biomassa, influenciando na eficácia do processo de bioadsorção passiva de cromo (VI) pela *S. platensis* e podendo ter ocasionado alterações nos



dados utilizados para construção da isoterma de adsorção. Visto isso, optou-se por não realizar a classificação do modelo matemático que melhor explicasse a variação encontrada nos resultados de retenção do metal, pois, o mesmo poderia apresentar dados equivocados e não representar de forma confiável o modelo da tendência apresentada pela biomassa morta da *S. platensis* na retenção de cromo (VI).

Para complementar o estudo da isoterma de adsorção de cromo (VI) pela *S. platensis* é aconselhável aprofundar os estudos, realizando mais ensaios, testando mais valores de pH (realizando a correção e manutenção do pH ao longo do ensaio para evitar que ocorram alterações), diferentes concentrações de biomassa e de metal. Uma forma alternativa de construção da isoterma seria variar a concentração do metal em solução, mantendo-se a concentração de biomassa constante, ou seja, realizar o processo inverso ao realizado nesse trabalho no qual foi mantida constante a concentração do metal e variado a concentração de bioissorvente. Outro teste interessante que pode ser realizado é a variação de temperatura no processo de adsorção de metais, possibilitando a avaliação de aspectos termodinâmicos, como a entalpia, a entropia e a energia livre de Gibbs.

Em termos de adsorção do metal pela biomassa ( $C_{eq}$ ), observa-se na Tabela 14 que a microalga apresentou potencial de adsorver cromo (VI), variando de  $14,56 \text{ mg.g}^{-1}$  (Exp. 8) a  $100,39 \text{ mg.g}^{-1}$  (Exp. 1). Nota-se que quanto maior a quantidade de biomassa menor foi a  $C_{eq}$  (Exp. 8 –  $5 \text{ g.L}^{-1}$  de biomassa –  $C_{eq}=14,56 \text{ mg.g}^{-1}$ ), sendo perfeitamente justificável uma vez que a  $C_{eq}$  é inversamente proporcional a quantidade de bioissorvente existente no meio (vide Equação 2).

Em comparação com resultados obtidos por outros autores, Doshi e colaboradores (2007), avaliaram o potencial da *Spirulina* inativa e ativa para bioissorção dos metais  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  (na forma de  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ). Os autores utilizaram diferentes concentrações de metais ( $0,05 \text{ g}/25 \text{ ml}$  a  $0,5 \text{ g}/25 \text{ ml}$ ) com concentração constante de biomassa ( $0,3 \text{ g}/25 \text{ ml}$ ). Com a biomassa inativa obtiveram resultados de  $130 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $100 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $167 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $515 \text{ mg.g}^{-1}$  para  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ , respectivamente, enquanto que com a biomassa ativa atingiram remoções de  $389 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $333 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $304 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $1.378 \text{ mg.g}^{-1}$  para  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ , respectivamente. Ao final do estudo, os autores concluíram que a biomassa ativa da *Spirulina* foi mais eficiente na bioissorção dos íons metálicos e que a microalga apresenta-se com potencial para bioissorção de metais. Esse estudo demonstra uma semelhança com o atual trabalho na eficiência do processo de bioissorção do metal cromo (VI) pela biomassa morta da *Spirulina*, uma vez que, os autores mencionados atingiram capacidade de bioissorção de 100

$\text{mg.g}^{-1}$ , valor esse muito próximo ao encontrado no atual trabalho o qual atingiu capacidade de bioissorção de  $100,39 \text{ mg.g}^{-1}$  (Exp. 1 – Tabela 14).

No estudo desenvolvido por Murugesan et al. (2008), foi analisado o potencial da biomassa ativa e inativa da microalga *S. platensis* para bioissorção de cádmio (Cd). Para a biomassa ativa, a capacidade máxima de remoção atingida foi de 44,56 mg de Cd por g de biomassa, enquanto que a biomassa inativa atingiu remoção de 47,89 mg de Cd por g de biomassa, demonstrando a capacidade da microalga para bioissorção de metais tanto na forma ativa quanto na forma inativa.

Gokhale et al. (2009), realizaram um estudo de bioissorção de cromo (VI) pela biomassa de *Spirulina platensis* imobilizada em capsulas de alginato de cálcio. Na ocasião, os autores utilizaram solução metálica com concentração inicial de cromo (VI) variável de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $150 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  e concentrações de biomassa variáveis de acordo com a altura do leito da coluna (15 cm, 22 cm e 28 cm) alcançando resultados de até 99% de remoção de cromo (VI) com maior altura do leito e concentração inicial do metal de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ . Michalak et al. (2013), testaram a macroalga *Enteromorpha prolifera* e a microalga *Spirulina platensis* para captação de cromo (III), mantendo as condições de cultivo otimizadas estabelecidas em estudos anteriores (pH = 5, T =  $25^\circ\text{C}$ , concentração de bioissorvente =  $1 \text{ g.L}^{-1}$ , concentração de cromo (VI) inicial =  $300 \text{ mg.L}^{-1}$ , agitação = 150 rpm). Para a *Enteromorpha prolifera*, atingiram bioissorção de cromo (VI) de  $85,8 \text{ mg.g}^{-1}$  e para a *Spirulina platensis*  $74,2 \text{ mg.g}^{-1}$ .

Doshi et al. (2008), compararam a potencial das algas verdes *Cladophora* sp. e *Spirulina* sp. para bioissorção dos metais  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  (na forma de  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) com diferentes concentrações metálicas (0,1 g/25 mL a 0,5 g/25 mL) com concentração constante de biomassa (0,3 g/25 ml). Para a *Cladophora* sp. obtiveram remoções de  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  de  $819 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $504 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $347 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $168 \text{ mg.g}^{-1}$ , respectivamente, enquanto que com a *Spirulina* sp. as remoções foram de  $576 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $1.108 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $306 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $202 \text{ mg.g}^{-1}$  para  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , respectivamente. Com esses resultados, os autores concluíram que fica evidente o potencial de ambas as algas para remoção de metais tóxicos, sendo necessário a realização de estudos voltados a avaliação do custo-benefício para aplicação dessa biomassa em processos de tratamento de efluentes industriais.

Muitos micro-organismos têm sido utilizados para captação de uma gama diversificada de metais tóxicos. Mane et al. (2011), estudaram o potencial das algas *Spirogyra* sp e *Nostoc commune* na remoção de selênio (II), atingindo remoções de  $12,5 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $13,1 \text{ mg.g}^{-1}$ , respectivamente, sendo os melhores resultados obtidos quando a biomassa de ambas as algas foram submetidas ao pré-tratamento físico de secagem em forno a  $60^\circ\text{C}$  durante 12 h.

Monteiro et al. (2011) estudaram a capacidade da microalga *Scenedesmus obliquus* para bioissorção de zinco, utilizando concentração de biomassa de  $0,2 \text{ g.L}^{-1}$  e solução metálica com diferentes concentrações de zinco ( $10 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $25 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $50 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $75 \text{ mg.L}^{-1}$ ). A maior remoção de zinco ocorreu quando utilizada maior concentração de metal ( $75 \text{ mg de Zn.L}^{-1}$ ) alcançando  $836 \text{ mg de Zn adsorvido por grama de biomassa}$ , demonstrando elevado potencial dessa microalga para captação de metais.

Kumar et al. (2009) avaliaram o potencial de cinco diferentes algas (*Cladophora fascicularis*, *Ulva lactuca*, *Chaetomorpha* sp., *Caulerpa sertularioides* e *Valoniopsis pachynema*) para bioissorção dos íons metálicos Cd, Hg e Pb. As concentrações metálicas foram variáveis de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $40 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $80 \text{ mg.L}^{-1}$  para os três metais estudados e concentração de biomassa de  $0,1 \text{ g/250 ml de solução}$  ( $0,4 \text{ g.L}^{-1}$ ). Com a alga *Cladophora fascicularis* atingiram remoções de  $4,5 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $55 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $31 \text{ mg.g}^{-1}$  para Cd, Hg e Pb, respectivamente; para a alga *Ulva lactuca* atingiram remoções de  $8,2 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $43 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $29 \text{ mg.g}^{-1}$  para Cd, Hg e Pb, respectivamente; para a alga *Chaetomorpha* sp. atingiram remoções de  $20 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $11 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $37 \text{ mg.g}^{-1}$  para Cd, Hg e Pb, respectivamente; para a alga *Caulerpa sertularioides* atingiram remoções de  $2,6 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $50 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $21 \text{ mg.g}^{-1}$  para Cd, Hg e Pb, respectivamente; para a alga *Valoniopsis pachynema* atingiram remoções de  $18 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $24 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $83 \text{ mg.g}^{-1}$  para Cd, Hg e Pb, respectivamente. No atual trabalho, quando trabalhado com concentração de biomassa semelhante (Exp. 2 –  $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ ), obteve-se bioissorção do metal de  $86,30 \text{ mg.g}^{-1}$ . Mesmo que, a maioria dos resultados obtidos por Kumar et al. (2009) sejam inferiores aos resultados obtidos no atual trabalho, os autores concluíram que a utilização de algas para bioissorção apresenta-se como uma técnica rentável uma vez que apresentou boa eficiência na captação dos íons metálicos.

Ferreira et al. (2007), avaliaram o potencial da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para captação do metal  $\text{Pb}^{2+}$ . As concentrações de metal utilizadas foram de  $0,282 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $3,4 \text{ mg.L}^{-1}$  com concentração de biomassa de  $0,1 \text{ g.L}^{-1}$  *in natura* em base úmida ( $0,028 \text{ g.L}^{-1}$  em base seca). Para o ajuste dos dados experimentais usando o modelo de Langmuir com regressão não linear, a capacidade máxima dos íons de chumbo adsorvidos pela *Saccharomyces cerevisiae* foi de  $1486,88 \text{ mg.g}^{-1}$ , enquanto com ajuste dos dados com regressão linear, obteve-se capacidade máxima de  $1233,00 \text{ mg.g}^{-1}$ , sendo que maiores quantidades de bioissorção, por unidade de biomassa, foram obtidas com concentrações menores de biomassa. Khani et al. (2012) utilizaram a biomassa do fungo *Aspergillus terreus* tratada com NaOH para bioissorção de estrôncio (Sr). Foram utilizadas concentrações iniciais do metal na faixa de  $22 \text{ mg.L}^{-1}$  a  $876 \text{ mg.L}^{-1}$ , pH variável de 2 a 12 e diferentes temperaturas

(15°C, 25°C, 35°C e 45°C). O melhor resultado foi obtido com concentração metálica de 876 mg de Sr.L, pH 9 e temperatura de 15C, atingindo adsorção de 308 mg de Sr por g de biomassa, demonstrando que o fungo *Aspergillus terreus* demonstrou potencial para aplicação em processos de remoção do metal de soluções aquosas, porém, os autores alertam para a necessidade de novos estudos que comprovem essa conclusão e tragam novas informações sobre a possibilidade de recuperação do metal e regeneração da biomassa.

## 4.2 Bioissorção ativa

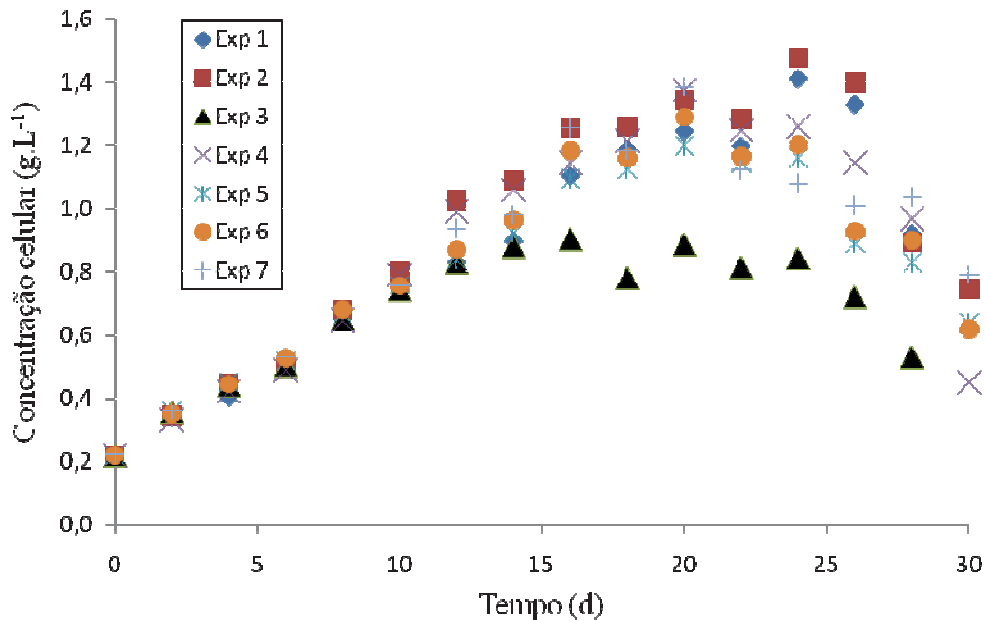
No cultivos da microalga *S. platensis* a fim de estudar a bioissorção ativa de cromo (VI) o valor do pH dos cultivos variou de 9,63 a 10,15 sendo essa faixa de pH considerada apropriada para o cultivo da *Spirulina platensis* proporcionando as condições ideais para o crescimento da mesma (PELIZER et al., 2003; RICHMOND; GROBBELAAR, 1986 apud ANDRADE; COSTA, 2008).

### 4.2.1 Avaliação do crescimento microalgal durante os processos de bioissorção ativa pela *S. platensis*

Nesse item estão apresentados os resultados de crescimento microalgal para o processo de operação dos reatores no modo batelada alimentada.

A Figura 11 apresenta as curvas de crescimento da microalga *S. platensis*, cepa LEB-52 em função do tempo de cultivo (d). Os dados utilizados para a geração das curvas de crescimento encontram-se no Apêndice B. Verificou-se que em todos os experimentos, houve um crescimento exponencial nos primeiros dias de cultivo (de 12 d a 14 d). No experimento 3, a partir do décimo quarto dia de cultivo houve uma estabilização no crescimento e posterior decréscimo na concentração celular, podendo ter ocorrido efeito tóxico do metal sobre o crescimento microalgal uma vez que, no experimento 3, foram realizadas adições de cromo (VI) na maior concentração (10 mg.L<sup>-1</sup>) estando o experimento com uma menor concentração de biomassa no momento da primeira adição da solução metálica (0,5 g.L<sup>-1</sup>). Para os demais experimentos, o desempenho no crescimento celular foi semelhante, apresentando crescimento até o vigésimo dia seguido de declínio na concentração, indicando a morte de parte das células existentes no meio. Isso pode ter ocorrido em função da limitação nutricional uma vez que não houve adição de nutrientes durante a realização do experimento, somente no início dos cultivos.

Figura 11: Crescimento microalgal em relação ao tempo de cultivo



A Tabela 15 apresenta os parâmetros de crescimento microalgal obtidos durante o cultivo pelo modo batelada alimentada. Os experimentos que apresentaram as maiores concentrações máximas foram aqueles nos quais a adição de cromo foi realizada nas menores concentrações (Experimentos 1 e 2), atingindo  $C_{\max}$  de 1,411 e 1,478  $\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente, demonstrando que a  $C_{\max}$  depende da concentração de compostos tóxicos presentes no meio. A menor  $C_{\max}$  observada foi no experimento 3 (0,906  $\text{g.L}^{-1}$ ) no qual foi adicionada maior quantidade de cromo (VI) (50  $\text{mg.L}^{-1}$ ) no menor nível de concentração celular na primeira adição do metal (0,5  $\text{g.L}^{-1}$ ), evidenciando a toxicidade do metal interferindo no crescimento celular. Quando a adição de cromo (VI), mesmo em altas concentrações (10  $\text{mg.L}^{-1}$ ), foi realizada nos cultivos com maior concentração celular na primeira adição (1,0  $\text{g.L}^{-1}$ ), o  $C_{\max}$  foi de 1,374  $\text{g.L}^{-1}$  (experimento 4), indicando que a maior quantidade de células no meio possibilitou melhor assimilação do metal, porém, o intervalo de crescimento exponencial ( $\Delta \log$ ) foi reduzido em ambos os experimentos contendo maior concentração de metal (experimentos 3 e 4, com 50  $\text{mg.L}^{-1}$  de cromo (VI)) (12 d) em relação aos demais experimentos que apresentaram  $\Delta \log$  de 16 d a 18 d.

Tabela 15: Parâmetros de crescimento da microalga *S. platensis* durante os processos de biossorção ativa de cromo (VI)

Exp.	(X <sub>1</sub> ) Cc	(X <sub>2</sub> ) [Cr(VI)] <sub>ad</sub>	[Cr(VI)] total ad	C <sub>max</sub> (g.L <sup>-1</sup> )	μ <sub>max</sub> (d <sup>-1</sup> )	Tg (d)	Δ log (d)	R <sup>2</sup>
1	0,5 (-1)	5 (-1)	25	1,41	0,08	7,92	0-18	0,96
2	1 (1)	5 (-1)	25	1,47	0,10	6,64	0-16	0,97
3	0,5 (-1)	10 (1)	50	0,90	0,10	6,64	0-12	0,94
4	1(1)	10 (1)	50	1,37	0,12	5,79	0-12	0,98
5	0,75 (0)	7,5 (0)	37,5	1,18	0,09	7,65	0-16	0,94
6	0,75(0)	7,5 (0)	37,5	1,28	0,09	7,23	0-16	0,95
7	0,75(0)	7,5 (0)	37,5	1,38	0,09	7,10	0-16	0,95

**X<sub>1</sub>** = concentração celular (Cc) na primeira adição de cromo (VI) (g.L<sup>-1</sup>); **X<sub>2</sub>** = concentração de cromo (VI) adicionada [Cr(VI)<sub>ad</sub>] a cada nova adição (mg.L<sup>-1</sup>); **[Cr(VI)]total ad** = concentração total de cromo (VI) adicionado (mg.L<sup>-1</sup>); **C<sub>max</sub>** = concentração celular máxima (g.L<sup>-1</sup>); **μ<sub>max</sub>** = velocidade específica máxima de crescimento (d<sup>-1</sup>); **Tg** = tempo de geração (d); **Δlog** = valores de tempo utilizados na regressão exponencial (d); **R<sup>2</sup>** = coeficientes de determinação das regressões.

Observa-se na Tabela 15 que os tempos de geração (tempos necessários para a duplicação da biomassa) variaram de 5,79 d a 7,92 d, sendo que os menores tempos de geração foram observados nos experimentos com maior concentração de cromo (VI) (50 mg.L<sup>-1</sup> de cromo (VI) em função da influência da quantidade de cromo adicionada sobre a fase exponencial de crescimento da microalga. Nestes ensaios, apesar do tempo de geração ser menor, indicando maior velocidade de crescimento, os microrganismos permaneceram em fase exponencial de crescimento por tempos inferiores (Δ log = 12 d) aos observados nos demais experimentos (16 a 18 d). Além disso, o prolongamento da fase exponencial de crescimento pode estar relacionado também com o fato de que em alguns ensaios a adição de cromo somente foi iniciada após o microrganismo atingir concentrações de 0,75 g.L<sup>-1</sup> (experimentos 5, 6 e 7) ou 1,0 g.L<sup>-1</sup> (experimentos 2 ou 4). No experimento 1, foi observado o menor valor de μ<sub>max</sub> (0,088 d<sup>-1</sup>) e o maior tempo de geração (7,92 d). Entretanto o cultivo permaneceu em crescimento exponencial por 18 d, resultando em concentrações celulares elevadas (1,41 g.L<sup>-1</sup>), similares às do experimento 2 (1,47 g.L<sup>-1</sup>), no qual o tempo de geração foi inferior (6,64) mas a permanência em fase exponencial foi menor (16 d).

Dal Magro et al. (2012) e Tedesco (2010) observaram que a adição de cromo (VI) nos cultivos da *S. platensis* provocou interferências nos parâmetros cinéticos de crescimento dessa

microalga, comprometendo o bom desenvolvimento celular e demonstrando a toxicidade do metal para o metabolismo microbiano. Para ambos os trabalhos, quanto maiores foram as concentrações de cromo (VI) adicionadas, menores foram as concentrações máximas atingidas, demonstrando a influência tóxica do metal ao aparato metabólico das células, sendo que, Dal Magro et al. (2012), adicionaram efluente contendo cromo (VI) no início dos ensaios, observado que o desenvolvimento celular foi afetado a partir da adição de efluente contendo em torno de 3 mg.L<sup>-1</sup> de cromo (VI). Tedesco (2010) utilizou solução de dicromato de potássio para fornecer cromo (VI) ao meio, observando que acima de 10 mg.L<sup>-1</sup> de cromo (VI) ocorreu interferência no crescimento celular, sendo que, quanto maior a concentração de metal, menor a taxa de crescimento celular.

Os metais tóxicos podem causar efeitos adversos em sistemas biológicos, produzindo indiretamente quebras na fita dupla do DNA da célula, através do estresse oxidativo (GASTALDO et al., 2008), sendo que esse estresse ocorre quando existe um desequilíbrio criado pela geração excessiva de oxidantes ou uma diminuição de antioxidantes (GUO et al., 2008). Segundo Moreira e Moreira (2004), os metais tóxicos podem danificar toda e qualquer atividade biológica, havendo diferentes tipos de respostas biológicas a esses metais.

Segundo Romera et al. (2007), a concentração de biomassa é uma variável importante durante a captação de metal, porém deve-se considerar que quanto maior o crescimento da biomassa, maior será a quantidade de matéria seca a ser tratada ou encaminhada para disposição final adequada, pois o metal que é retirado do meio vai estar acumulado no interior da biomassa. Portanto, em experimentos de remoção de metais, o crescimento da biomassa não deve ser exagerado, para não gerar um grande custo de tratamento e disposição final desta biomassa, diminuindo a relação custo-benefício do processo biossortivo (TEDESCO, 2010).

#### **4.2.1.1 Análise estatística dos resultados de crescimento microalgal no processo de biossorção ativa pela *S. platensis***

As Tabelas 16 e 17 apresentam a análise de variância do modelo de regressão gerado a partir das variáveis do planejamento fatorial sobre a concentração celular máxima, bem como os efeitos estimados das variáveis e os coeficientes de regressão do modelo. Verifica-se que ambas as variáveis bem como a interação entre essas variáveis ( $X_1.X_2$ ), apresentaram efeitos significativos sobre a  $C_{max}$  ( $p < 0,05$ ). A variável  $X_1$  (concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI)) apresentou efeito positivo indicando que os melhores valores de  $C_{max}$  foram alcançados quando a adição de cromo (VI) iniciou com maior concentração celular no



meio. Já a variável  $X_2$  (concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição) apresentou efeito negativo (-0,304667) indicando que os melhores valores de  $C_{\max}$  foram obtidos quando foram adicionadas menores concentrações de cromo (VI) aos cultivos.

Tabela 16: Análise de variância do modelo de regressão da Concentração máxima de crescimento ( $C_{\max}$ ) em função das variáveis do PFC 2<sup>2</sup>, no processo de bio sorção ativa pela microalga *S. platensis*

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado	F crítico
Regressão	0,61	3	0,20	57,28	3,19
Erro	0,06	17	0,00		
Soma dos quadrados totais (SS)	0,67	20			

Tabela 17: Análise de Variância do modelo de regressão gerado a partir das variáveis do PFC 2<sup>2</sup> sobre Concentração máxima de crescimento ( $C_{\max}$ ) dos experimentos

Fonte de variação	Coefficientes de regressão	Efeitos estimados	Nível de significância (p)
Média	1,28	1,28	0,00
$X_1$	0,13	0,26	0,0001
$X_2$	-0,15	-0,30	0,00
$X_1 \cdot X_2$	0,10	0,20	0,00021
$R^2 = 91\%$ ; $R^2_{\text{ajustado}} = 89\%$			

$X_1$  = concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI) ( $\text{g.L}^{-1}$ );  $X_2$  = concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição ( $\text{mg.L}^{-1}$ ).

O modelo estatístico de regressão que explica a influência das variáveis estudadas no crescimento microalgal ( $C_{\max}$ ) incluindo os parâmetros estatisticamente significativos ao nível de significância estudado ( $p < 0,05$ ), está apresentado na Equação 12.

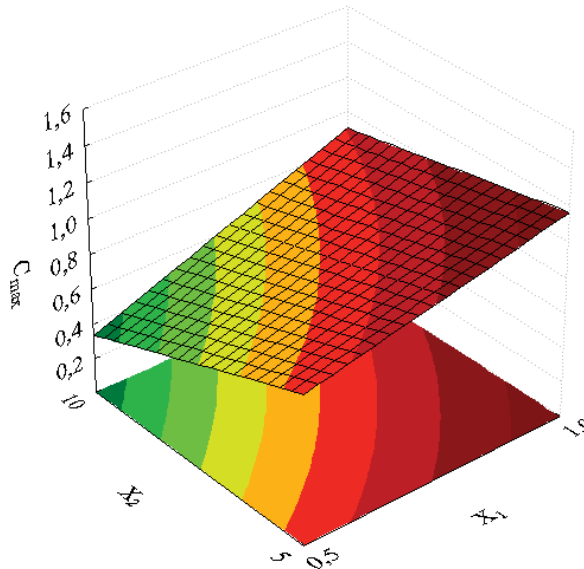
$$C_{\max} = 1,28 + 0,13 \cdot X_1 - 0,15 \cdot X_2 + 0,10 \cdot X_1 \cdot X_2 \quad (12)$$

De acordo com Rodrigues e Iemma (2009), o  $F_{\text{calculado}}$  do modelo de regressão deve ser superior ao  $F_{\text{tabelado}}$  para rejeição da hipótese nula ao nível de significância estudado, ou seja, a variação causada pelo modelo é significativamente maior que a variação não explicada. Nesse caso, o valor de  $F_{\text{calculado}}$  (57,28) foi superior ao  $F_{\text{crítico}}$  (3,19). Além do valor de F, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) também é útil para checar a qualidade do modelo



(KAUSHIK et al., 2010), sendo que nessa análise o  $R^2$  do modelo foi de 0,91 e o  $R^2$  ajustado foi de 0,89. Dessa forma, em função do elevado valor de  $F_{\text{calculado}}$  da regressão e do  $R^2$ , pode-se validar o modelo estatístico possibilitando a superfície de resposta da Figura 12, referente à interação  $X_1.X_2$ , a qual apresentou efeito estimado significativo ( $p < 0,05$ ).

Figura 12: Superfície de resposta da concentração máxima de biomassa ( $C_{\text{max}}$ ) em função das variáveis do PFC  $2^2$



As Tabelas 18 e 19, respectivamente, apresentam a análise de variância do modelo de regressão, os efeitos estimados e os coeficientes de regressão das variáveis do PFC  $2^2$  sobre a velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\text{max}}$ ).

Tabela 18: Análise de variância do modelo de regressão gerado a partir da influência das variáveis do PFC  $2^2$  sobre a velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\text{max}}$ ) dos experimentos

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	$F_{\text{calculado}}$	$F_{\text{crítico}}$
Regressão	0,001	3	0,0005	16,33	3,19
Erro	0,0005	17	0,00003		
Soma dos quadrados totais (SS)	0,002	20			

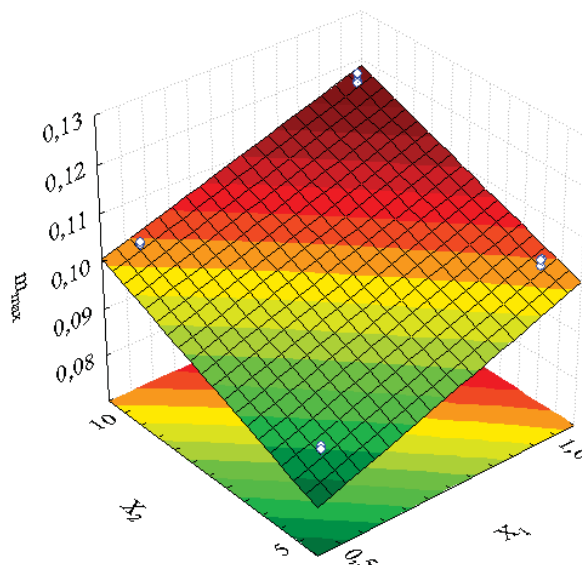
Tabela 19: Efeitos estimados e coeficientes de regressão das variáveis do PFC 2<sup>2</sup> sobre a velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\max}$ )

Fonte de variação	Coefficientes de regressão	Efeitos estimados	Nível de significância (p)
Média	0,10	0,10	0,00
X <sub>1</sub>	0,008	0,01	0,0001
X <sub>2</sub>	0,008	0,01	0,0001
X <sub>1</sub> .X <sub>2</sub>	-0,0004	-0,0009	0,78
$R^2 = 74\%$ ; $R^2_{\text{ajustado}} = 70\%$			

$X_1$  = concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI) (g. L<sup>-1</sup>);  $X_2$  = concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição (mg. L<sup>-1</sup>).

Conforme apresentado na Tabela 19, verifica-se que ambas as variáveis estudadas ( $X_1$  e  $X_2$ ) apresentaram efeitos significativos sobre a  $\mu_{\max}$  ( $p < 0,05$ ). Tanto a variável  $X_1$  quanto a  $X_2$  apresentaram efeito positivo indicando que os melhores valores de  $\mu_{\max}$  foram obtidos nos níveis mais altos das variáveis (maior concentração celular na primeira adição de cromo (VI) e maior concentração de cromo (VI) adicionada aos cultivos). A interação entre as variáveis ( $X_1.X_2$ ) não apresentou efeito significativo sobre a  $\mu_{\max}$  ( $p = 0,784629$ ). A superfície de resposta dos efeitos das variáveis sobre a velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\max}$ ) está apresentada na Figura 13.

Figura 13: Superfície de resposta da velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\max}$ ) em função das variáveis do PFC 2<sup>2</sup>



O modelo de regressão obtido, incluindo os parâmetros estatisticamente significativos ao nível de significância estudado ( $p < 0,05$ ), está apresentado na Equação 13, sendo o modelo validado uma vez que o valor de  $F_{\text{calculado}}$  (16,33) foi superior ao  $F_{\text{crítico}}$  (3,19) (RODRIGUES; IEMMA, 2009). O valor de  $R^2$  do modelo foi de 0,74 e o  $R^2$  ajustado foi de 0,70, valor considerado razoável para essa análise.

$$\mu_{\text{max}} = 0,10 + 0,008 \cdot X_1 + 0,008 \cdot X_2 \quad (13)$$

#### 4.2.2 Remoção de cromo (VI) e conversão em cromo (III) durante a biossorção ativa com *S. platensis*

Ao final dos ensaios foi realizada a determinação de cromo total, cromo (VI) e cromo (III) existente no efluente e na biomassa, para verificar a retenção e a conversão do cromo (VI) em uma forma menos tóxica, o cromo (III), pela microalga *Spirulina platensis*. Inicialmente, com os valores de cromo total existente na biomassa e no efluente, foi realizado um balanço de massa considerando o montante de cromo (VI) adicionado e o montante de cromo total recuperado (medido) ao final do processo (na biomassa e no efluente), conforme apresentado na Tabela 20.

Tabela 20: Cromo total adicionado e recuperado através dos métodos analíticos nos ensaios de biossorção ativa com a microalga *S. platensis*

Exp.	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	[Cr(VI)] adicionado (mg)	[Cr total] biomassa (mg)	[Cr total] efluente (mg)	[Cr total] rec (mg)	[Cr total] rec (%)
1	0,5	5	32,5	1,71	25,62	27,32	84,1
2	1	5	32,5	1,46	24,74	26,20	80,6
3	0,5	10	65,0	2,11	59,09	61,19	94,1
4	1	10	65,0	2,13	47,64	49,77	76,6
5	0,75	7,5	48,75	1,53	36,85	38,38	78,7
6	0,75	7,5	48,75	1,68	33,11	34,79	71,4
7	0,75	7,5	48,75	1,54	34,87	36,40	74,7

X<sub>1</sub> = concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI) (g.L<sup>-1</sup>); X<sub>2</sub> = concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição (mg.L<sup>-1</sup>); [Cr(VI)]adicionado = concentração total de cromo (VI) adicionada no experimento considerando o volume final do cultivo de 1,3 L (mg); [Cr total]rec = concentração de cromo total medida ao final do experimento, considerando o volume final do cultivo de 1,3 L (mg) (%).

Para os cálculos de cromo adicionado e cromo recuperado, foi considerado o volume final do meio de cultivo dos ensaios, os quais foram controlados durante o experimento para evitar perdas por evaporação, sendo que os cultivos foram finalizados contendo volume total de 1,3 L cada biorreator.

Com base na Tabela 20, observa-se que houve uma diminuição do cromo total recuperado em relação ao cromo total adicionado. Observa-se que a maior quantidade de cromo recuperada foi obtida no experimento 3 (94,1%) e a menor, desconsiderando os pontos centrais (exp. 5, 6 e 7), foi obtida no experimento 4 (76,6%), sendo que em ambos os experimentos a concentração de cromo adicionado foi igual ( $10 \text{ mg.L}^{-1}$ ), mas a concentração celular na primeira adição de cromo diferia de um experimento para o outro ( $0,5 \text{ g.L}^{-1}$  no exp. 3 e  $1,0 \text{ g.L}^{-1}$  no exp. 4), indicando que a maior presença de biomassa no meio pode ter contribuído de alguma forma para a diminuição do cromo recuperado ao final do experimento. O mesmo comportamento foi observado nos experimentos 1 e 2, os quais apresentaram 84,1% e 80,6% de cromo recuperado, respectivamente, sendo que o experimento 2 possuía maior concentração celular no momento da primeira adição de cromo ( $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ ). Para os pontos centrais, experimentos 5, 6 e 7 os totais de cromo recuperado foram de 78,7%, 71,4% e 74,7%, respectivamente.

A diminuição do cromo recuperado em relação ao cromo adicionado pode ter ocorrido em função das condições do meio de cultivo e dos componentes existentes nesse meio, os quais podem ocasionar a alteração na forma do metal, insolubilizando o mesmo e levando a redução da concentração metálica. Outro fator que pode ter influenciado na concentração de cromo no meio é o pH pois, a microalga necessita de pH elevado para sua manutenção, apresentando melhor desempenho em valores de pH próximos de 9,0.

O pH é uma das variáveis mais importantes no processo de remoção de metais tóxicos por biomassa, visto que a especiação do metal na solução é dependente do pH, e a carga dos sítios ativos na superfície pode mudar dependendo deste valor (ATKINSON et al., 1998 apud PINO; TOREM, 2011).

Segundo Kabata-Pendias e Pendias (1987) citados por Barros (2006), em pH elevado, muitos metais sofrem microprecipitação, podendo insolubilizar uma parte do metal existente na solução, sendo que o cromo trivalente pode precipitar na forma de hidróxidos em condições de pH próximo do neutro (PIRETE et al., 2008). Para Possa e Santos (2003), o pH requerido para precipitar a maioria dos metais da água varia no intervalo de 6 a 9 tendo exceções para o hidróxido férrico que precipita em pH ácido, em torno de 3,5 e o hidróxido de alumínio, pH próximo a 5,5.

Porém, considerando-se a importância de separar e remover metais que se encontram dissolvidos em soluções, deve-se considerar positiva a ocorrência do fenômeno da precipitação, uma vez que, de acordo com Krotba et al. (2011), de uma forma geral, a precipitação do metal eleva os índices globais de bioadsorção, elevando assim, a eficiência do processo.

Viraghavam e Kapoor (1994) apud Aguiar e Novaes (2002) avaliaram o efeito do pH, na faixa de 2 a 7, para adsorção de mercúrio presente em um efluente industrial pela bentonita na forma sódica, sendo observado que a taxa de remoção do mercúrio foi máxima na faixa de pH entre 3,0 e 3,5, enquanto para valores acima de 6,5 foi observada a precipitação do mercúrio existente no meio. Pino e Torem (2011), avaliaram a capacidade da casca de coco para remoção de Cr(III), Cr(VI) e Cd(II) em função de pH, observando que, em pHs elevados, ocorre uma diminuição na capacidade de adsorção em função da precipitação do metal.

Outro fator que pode ter influenciado na diferença entre o cromo adicionado e o cromo recuperado, são os diferentes métodos analíticos de determinação de cromo (VI) e cromo total, visto que o primeiro foi determinado por espectrofotometria molecular (método da 1,5 difenilcarbazida) e o segundo foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica.

A determinação de baixas concentrações de cromo em níveis traços, em diferentes matrizes ambientais, é complexa e existem problemas analíticos que podem interferir na qualidade do resultado (BARROS et al., 2001). Segundo os mesmos autores, um dos métodos utilizados para a determinação de cromo total em diferentes matrizes ambientais (água, sedimentos e organismos), em diferentes concentrações, é a espectrofotometria de absorção atômica.

No entanto, considerando os efeitos opostos sobre a saúde humana em função da especiação do cromo (trivalente e hexavalente), torna-se essencial um método analítico que quantifique as suas concentrações de forma independente, sendo que, atualmente, o método da espectrofotometria molecular tem sido utilizado, onde a difenilcarbazida é utilizada para a determinação de cromo hexavalente e o cromo trivalente é obtido pela diferença entre cromo total e hexavalente (BARROS et al., 2001)..

As concentrações de cromo (III) e cromo (VI) existentes na biomassa e no efluente estão apresentadas na Tabela 21. Na Tabela 22 apresentam-se os índices de remoção e conversão do cromo (VI) na biomassa e no efluente (%), considerando o cromo total recuperado.

Tabela 21: Parcelas de cromo (VI) e cromo (III) existentes no efluente e na biomassa em relação ao cromo total recuperado ao final do cultivo

Exp.	[Cr total] rec (mg)	[Cr (VI)] biomassa (mg)	[Cr (III)] biomassa (mg)	[Cr (VI)] efluente (mg)	[Cr (III)] efluente (mg)
1	27,32	ND	1,71	9,50	16,12
2	26,20	ND	1,46	10,81	13,93
3	61,19	ND	2,11	28,01	31,08
4	49,77	ND	2,13	22,30	25,33
5	38,38	ND	1,53	19,25	17,60
6	34,79	ND	1,68	17,78	15,33
7	36,40	ND	1,54	17,87	16,99

ND: Não Detectado

Tabela 22: Eficiência de remoção de cromo (VI) e conversão do cromo (VI) em cromo (III) na biomassa e no efluente em relação ao cromo total recuperado ao final dos cultivos

Exp.	[Cr total] rec (mg)	Remoção Cr(VI) efluente (%)	Cromo removido transformado em Cr(III) no efluente (%)	Cromo removido transformado em Cr(III) na biomassa (%)
1	27,32	65,23	90,42	9,58
2	26,20	58,75	90,48	9,52
3	61,19	54,24	93,66	6,34
4	49,77	55,19	92,25	7,75
5	38,38	49,85	92,00	8,00
6	34,79	48,90	90,08	9,92
7	36,40	50,91	91,71	8,29

Na Tabela 21, percebe-se que, em todos os experimentos, não foi detectada a ocorrência de cromo (VI) na biomassa, sendo todo o cromo retido na célula transformado em cromo (III), demonstrando a capacidade da microalga na transformação dessa espécie metálica em uma forma menos tóxica. Na Tabela 22, observa-se que do cromo (VI) removido do efluente, os índices de conversão em cromo (III) foram elevados uma vez que todos os experimentos apresentaram índices de conversão de cromo (VI) em cromo (III) superiores a 90%, sendo que, o experimento que apresentou menor índice obteve 90,08% de conversão (exp. 6) e o experimento com maior índice obteve 93,66 % de conversão (exp. 3),

fortalecendo a hipótese de que a presença da microalga auxiliou a conversão do cromo (VI) numa forma menos tóxica, o cromo (III).

De acordo com Pirete et al. (2008), a redução enzimática de cromo (VI) em cromo (III) pode ser um dos mecanismos de defesa empregado pelos micro-organismos que vivem em ambientes contaminados com esse tipo de metal. Segundo Beattie e Haigh (1972) citados por Hayashi (2001), a redução de cromo (VI) para cromo (III) pode ocorrer através de inúmeros mecanismos, que dependem basicamente da natureza do agente redutor e das condições da reação. O metabolismo do cromo (VI) envolve sua redução celular por pequenas moléculas e sistemas de enzimas, gerando intermediários reativos e cromo (III) (HAYASHI, 2001).

Conforme relatos de Rapoport e Muter (1995) apud Hayashi (2001), as membranas biológicas são impermeáveis ao cromo (III), mas o cromo na forma hexavalente pode permear através delas e ser reduzido na mitocôndria, núcleo e citoplasma a cromo (III), ligando-se a proteínas e interagindo com ácidos nucleicos. Esse processo pode causar danos na estrutura celular comprometendo o desenvolvimento da cultura microbiana. Na água, a forma hexavalente do cromo apresenta-se bastante estável em função da pequena quantidade de agentes redutores, sendo que a forma trivalente está associada à matéria particulada, sugerindo que as partículas orgânicas possam reduzir e se ligar ao elemento (HAYASHI, 2001).

Segundo Câmara (2011), processos de redução do cromo (VI) através de alguns mecanismos, como por exemplo, troca aniônica e adsorção e/ou absorção, podem ser utilizados para diminuir a concentração destes íons no meio e conseqüentemente minimizar os danos. Em tratamentos *in natura*, macrófitas aquáticas tem sido utilizado demonstrando um grande potencial para adsorver e remover, reduzindo o cromo (VI) em cromo (III) dentro de seus tecidos (MARTIN, 2008).

A maioria dos estudos até então publicados sobre a redução biológica de metais tem sido desenvolvidos em escala de laboratório, poucos, entretanto foram aplicados industrialmente. Os primeiros estudos da redução biológica de cromo (VI) em uma planta piloto foram utilizando filtros biológicos com cultura mista de microrganismos, originária de lodo industrial. Os resultados mostraram altas reduções nas taxas de cromo (VI), prometendo assim uma possível solução tecnológica para um problema ambiental sério (PIRETE et al., 2008).

Porém, ao analisar a Tabela 22 nota-se que, do total de cromo (VI) removido, a quantidade de cromo retido na biomassa (cromo (III)) apresentou índices variando de 6,34%

(exp. 3) a 9,92% (exp. 6) inferiores aos índices de conversão de cromo (VI) em cromo (III) encontrados no efluente (90,08% (exp. 6) a 93,66% (exp. 3)), demonstrando que a concentração de cromo no líquido ainda permaneceu elevada na forma trivalente, sendo que, a forma trivalente é a forma mais estável do cromo em solução e transformá-lo em estados de oxidação mais baixos ou mais altos requer um ganho de energia considerável (HAYASHI, 2001). Segundo o mesmo autor, a concentração de cromo (III) acima do normal pode causar malefícios uma vez que, promove o desequilíbrio do sistema celular.

Em relação à remoção do cromo (VI) no efluente, observa-se na Tabela 22, que os índices de remoção variaram de 48,90% (exp. 6) a 65,23% (exp. 1). Os melhores índices de remoção do cromo na forma hexavalente do efluente, foi alcançado nos experimentos com menor concentração do metal adicionada (exp. 1 e exp. 2 com remoções de 65,23% e 58,75%, respectivamente), enquanto que os menores índices de remoção do metal foram obtidos nos pontos centrais, os quais apresentavam concentração de cromo (VI) adicionada intermediária, com remoções de 49,85% (exp. 5), 48,90% (exp. 6) e 50,91% (exp. 7), enquanto que os cultivos com maior concentração de cromo (VI) adicionada (exp. 3 e exp. 4) apresentaram remoções de 54,24% e 55,19%, respectivamente.

Em comparação com outros estudos realizados nessa área, observa-se semelhança nos índices de remoções obtidos. Tedesco (2010) utilizou efluente sintético contendo cromo (VI) para bio-sorção pela biomassa viva da microalga *S. platensis*, alcançando índices de remoção do metal de 78% a 92%. Para efluentes que apresentam em sua composição metais tóxicos, Dal Magro e colaboradores (2012) utilizaram a biomassa ativa da microalga *Spirulina patensis* na remoção de cromo (VI) e DQO, obtendo resultados satisfatórios, uma vez que a microalga *Spirulina* apresentou capacidade de bio-sorção de cromo (VI) de 40% a 60% e remoção de DQO de 60 a 70%. Salienta-se que, em ambos os trabalhos não foi realizado o acompanhamento do comportamento do metal na solução em função das condições de cultivo. Siva Kiran et al. (2012) avaliaram a capacidade da biomassa ativa da *Spirulina (Arthospira) indica* na bio-sorção de  $Cd^{+2}$ , alcançando remoções de até 93,9% desse metal, sendo que a taxa de remoção aumentou com o aumento da concentração inicial do metal.

Outros micro-organismos têm sido extensivamente utilizados para remoção e conversão de metais de efluentes. Saravanan et al. (2009) utilizaram a alga *Sargassum sp.* para remoção de cromo e zinco, atingindo remoções de 65% e 53%, respectivamente. Dalcin (2009) utilizou uma cultura mista de micro-organismos para redução do cromo hexavalente em trivalente alcançando reduções de até 70,3% desse metal. Conceição e colaboradores (2007) selecionaram micro-organismos de um solo contaminado com cromo e caracterizaram



sua capacidade de redução do cromo hexavalente para trivalente durante o crescimento celular, sendo que, no isolamento obtiveram 20 bactérias resistentes a cromo (VI), das quais, seis delas apresentaram potencial de reduzir acima de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  de cromo (VI) em 24 h, atingindo reduções de até 64%, demonstrando bom potencial desses micro-organismos na redução do cromo (VI).

Panigatti et al. (2012) estudaram o potencial da *Escherichia coli* para tratamento de efluente metalúrgico contendo cromo através da biorredução do cromo (VI) em cromo (III), concluindo que a bactéria foi capaz de reduzir o cromo (VI), comprovando a adaptabilidade do micro-organismo em adotar a biorredução como mecanismo de remoção do metal.

Camargo et al. (2005) avaliaram a toxicidade do cromo no crescimento de bactérias isoladas de um solo contaminado com dicromato de potássio bem como a capacidade dessas bactérias para reduzir o cromo (VI) na forma menos tóxica (cromo (III)), demonstrando que tanto o crescimento bacteriano como a conversão do cromo foram afetados pela concentração de cromo existente no meio, alcançando remoção de cromo de 100% para uma concentração inicial de  $7,5 \text{ }\mu\text{M}$  de cromo (VI) em 24 horas. Dermou et al. (2007), em estudo realizado utilizando filtro biológico, encontraram remoções de até 100 % para concentrações iniciais de cromo hexavalente de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $30 \text{ mg.L}^{-1}$ .

De acordo com Pirete et al. (2008), a alta taxa de remoção de cromo hexavalente alcançada por Dermou et al. (2005) utilizando populações bacterianas resistentes ao cromo foi um indicativo muito bom de que a remoção biológica de cromo hexavalente de efluentes industriais é uma técnica factível, eficiente e econômica. Desta forma, disponibiliza-se uma alternativa às indústrias que geram efluentes contendo metais, além de contribuir para redução dos impactos ambientais causados por essas indústrias devido ao lançamento de efluentes ricos em cromo sem tratamento no ambiente.

No Apêndice C encontra-se o quadro compilado com todos os resultados de remoção e conversão do cromo (VI) tanto no efluente como na biomassa e respectivas formas de determinação e cálculos.

#### **4.2.2.1 Análise estatística dos resultados de remoção de cromo (VI) e conversão em cromo (III) no processo de biossorção ativa com *S. platensis***

Com base nos resultados obtidos foi realizada a análise estatística para verificar quais os fatores que mais influenciaram na remoção de cromo (VI) do efluente, na conversão do

chromo (VI) em chromo (III) no efluente, na retenção de chromo total na biomassa e no total de conversão do chromo (VI) em chromo (III).

As Tabelas 23 e 24 apresentam, respectivamente, a análise de variância do modelo de regressão gerado a partir das variáveis do planejamento fatorial sobre o percentual de chromo (VI) removido do efluente, bem como os efeitos estimados das variáveis e os coeficientes de regressão.

Tabela 23: Análise de variância do modelo de regressão gerado a partir da influência das variáveis do PFC 2<sup>2</sup> sobre a remoção de chromo (VI) do efluente

<b>Fonte de variação</b>	<b>Soma dos quadrados</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Quadrado médio</b>	<b>F calculado</b>	<b>F crítico</b>
Regressão	370,69	4	92,67	52,72	3,63
Erro	15,82	9	1,75		
Soma dos quadrados totais (SS)	386,51	13			

Tabela 24: Efeitos estimados e coeficientes de regressão obtidos a partir da influência das variáveis do PFC 2<sup>2</sup> sobre a remoção de chromo (VI) do efluente

<b>Fonte de variação</b>	<b>Coefficientes de regressão</b>	<b>Efeitos estimados</b>	<b>Nível de significância (p)</b>
Média	57,39	57,39	0,00
X <sub>1</sub>	-1,16	-2,33	0,03
X <sub>2</sub>	-3,44	-6,89	0,00004
X <sub>1</sub> .X <sub>2</sub>	1,73	3,47	0,004
$R^2 = 96\%$ ; $R^2_{\text{ajustado}} = 94\%$			

X<sub>1</sub> = concentração celular antes da primeira adição de chromo (VI) (g. L<sup>-1</sup>); X<sub>2</sub> = concentração de chromo (VI) adicionada a cada nova adição (mg. L<sup>-1</sup>).

Observa-se na Tabela 24 que ambas as variáveis estudadas (X<sub>1</sub> e X<sub>2</sub>), bem como a interação entre essas variáveis (X<sub>1</sub>.X<sub>2</sub>), apresentaram efeitos significativos sobre o percentual de remoção de chromo (VI) do efluente (p<0,05). A variável X<sub>1</sub> (concentração celular antes da primeira adição de chromo (VI)) apresentou efeito negativo (-2,3329) indicando que os melhores valores de remoção de chromo (VI) do efluente foram obtidos quando o chromo (VI) começou a ser adicionado com menor concentração celular no meio. Da mesma forma, a variável X<sub>2</sub> (concentração de chromo (VI) adicionada a cada nova adição) apresentou efeito negativo (-6,8901) indicando que os melhores valores de remoção de chromo (VI) do efluente

foram obtidos quando foram adicionadas menores concentrações de cromo (VI) aos cultivos, sendo que essa variável ( $X_2$ ) apresentou efeito cerca de três vezes superior ao efeito apresentado pela variável  $X_1$ , demonstrando que a concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição exerceu maior influência sobre o resultado de remoção de cromo (VI) do efluente. Já para a interação entre as variáveis ( $X_1.X_2$ ), o efeito foi positivo (3,4729), indicando que as variáveis, quando analisadas integradas, apresentaram melhores resultados nos níveis superiores, porém a interação entre elas não foi significativa ao nível de significância estudado ( $p < 0,05$ ), não sendo assim, apresentada no modelo estatístico de regressão.

O modelo estatístico de regressão que explica a influência das variáveis estudadas no percentual de remoção de cromo (VI) do efluente, incluindo os parâmetros estatisticamente significativos ao nível de significância estudado ( $p < 0,05$ ), está apresentado na Equação 14.

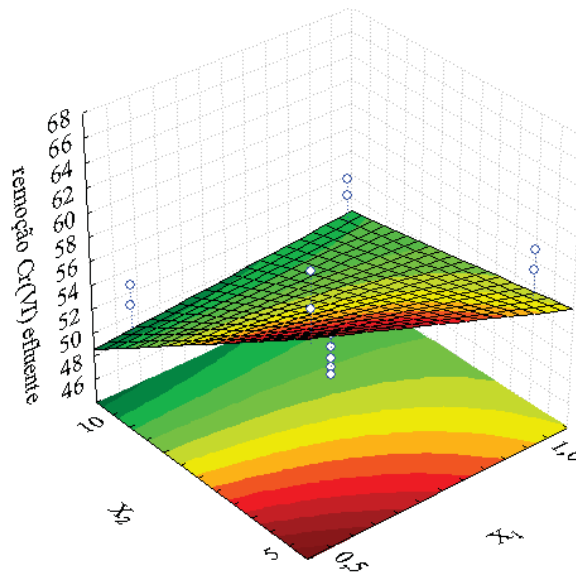
$$\%R_{Cr(VI)_{\text{efluente}}} = 57,39 - 2,33.X_1 - 6,89.X_2 + 3,47.X_1.X_2 \quad (14)$$

O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) é um parâmetro útil para checar a qualidade do modelo sendo que nessa análise o  $R^2$  do modelo foi de 0,96 e o  $R^2$  ajustado foi de 0,94, valor considerado elevado, pois, 94% das variações ocorridas são explicadas pelo modelo estatístico (RODRIGUES; IEMMA, 2009). O valor F é outro parâmetro que indica a qualidade do modelo, sendo que, para rejeição da hipótese nula ao nível de significância estudado o valor de  $F_{\text{calculado}}$  deve ser superior ao  $F_{\text{crítico}}$ , demonstrando que a variação causada pelo modelo é significativamente maior que a variação não explicada (MURALIDHAR, 2001).

Considerando-se que a interação entre as variáveis  $X_1$  e  $X_2$  foi estatisticamente significativa ( $p = 0,004887$ ), o  $F_{\text{calculado}}$  (52,72) foi superior ao  $F_{\text{tabelado}}$  (3,63), e o  $R^2$  apresentou valor elevado (94%), será apresentada a superfície de resposta demonstrando a influência das variáveis de entrada ( $X_1$  e  $X_2$ ) sobre a variável resposta (remoção de cromo (VI) do efluente), representando os dados experimentais obtidos (RODRIGUES; IEMMA, 2009). A superfície de resposta para os resultados de remoção de cromo (VI) do efluente em função das variáveis estudadas está apresentada na Figura 14.

A superfície de resposta apresentada na Figura 14 confirma os efeitos negativos apresentados na Tabela 24, demonstrando que os melhores resultados para remoção de cromo (VI) do efluente foram obtidos nos menores níveis das variáveis  $X_1$  (concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI)) e  $X_2$  (concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição).

Figura 14: Superfície de resposta da remoção de cromo (VI) do efluente em função das variáveis do PFC 2<sup>2</sup>



Após realizada a análise estatística da eficiência de remoção (%) de cromo (VI) removido do efluente, foi avaliada a influência das variáveis do PFC sobre a eficiência (%) de transformação de cromo (VI) em cromo (III) no efluente.

A Tabela 25 apresenta a análise de variância do modelo de regressão gerado em função das variáveis estudadas no PFC 2<sup>2</sup> sobre a eficiência de conversão do cromo (VI) em cromo (III) no efluente.

Tabela 25: Análise de variância do modelo de regressão gerado a partir da influência das variáveis do PFC 2<sup>2</sup> sobre a transformação de cromo (VI) em cromo (III) no efluente

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F <sub>calculado</sub>	F <sub>crítico</sub>
Regressão	15,35	4	3,83	7,51	3,63
Erro	5,31	9	0,51		
Soma dos quadrados totais (SS)	20,66	13			

De acordo com a Tabela 25 observa-se que o  $F_{\text{calculado}}$  (7,50) foi superior ao  $F_{\text{crítico}}$  (3,63) e o valor de  $R^2$  do modelo foi de 0,77 e o  $R^2$  ajustado de 0,68. Considerando o valor de  $R^2$  razoável e que o  $F_{\text{calculado}}$  foi superior ao  $F_{\text{tabelado}}$ , mesmo não havendo interação significativa ao nível de significância estudado entre as variáveis  $X_1$  e  $X_2$ , pode-se validar a superfície de resposta, pois, a mesma representa as variações explicadas pelo modelo

estatístico. A superfície de resposta para os resultados de conversão de cromo (VI) em cromo (III) no efluente em função das variáveis estudadas está apresentada na Figura 15.

A Tabela 26 apresenta os efeitos estimados e os coeficientes de regressão do modelo em função das variáveis estudadas no PFC 2<sup>2</sup> sobre a eficiência de conversão do cromo (VI) em cromo (III) no efluente.

Tabela 26: Análise de Variância do modelo de regressão gerado a partir das variáveis do PFC 2<sup>2</sup> sobre a conversão de cromo (VI) em cromo (III) no efluente

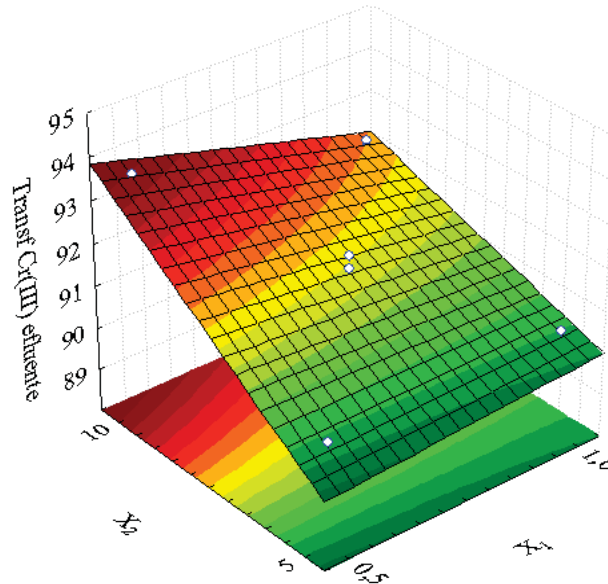
<b>Fonte de variação</b>	<b>Coefficientes de regressão</b>	<b>Efeitos estimados</b>	<b>Nível de significância (p)</b>
Média	91,36	91,36	0,00
X <sub>1</sub>	0,78	-0,62	0,24
X <sub>2</sub>	13,36	2,58	0,0006
X <sub>1</sub> .X <sub>2</sub>	1,21	-0,77	0,15
$R^2 = 77\%$ ; $R^2_{\text{ajustado}} = 68\%$			

$X_1$  = concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI) (g. L<sup>-1</sup>);  $X_2$  = concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição (mg. L<sup>-1</sup>).

Observando-se a Tabela 26 percebe-se que somente a variável X<sub>2</sub> (concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição) apresentou efeito significativo ao nível de significância estudado (p<0,05) sobre a transformação de cromo (VI) em cromo (III) no meio de cultivo. A variável X<sub>1</sub> (concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI)), bem como a interação entre essas variáveis (X<sub>1</sub>.X<sub>2</sub>), não apresentaram efeitos significativos sobre o percentual de conversão do cromo (VI) em cromo (III) no efluente (p=0,24 e p=0,15, respectivamente). A variável X<sub>2</sub> apresentou efeito positivo (2,58508) indicando que os melhores valores de conversão do cromo (VI) em cromo (III) no efluente foram obtidos quando foram adicionadas maiores concentrações de cromo (VI) aos cultivos, sendo que essa variável (X<sub>2</sub>) apresentou efeito cerca de quatro vezes superior ao efeito apresentado pela variável X<sub>1</sub>, demonstrando que a concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição exerceu maior influência no resultado de conversão de cromo (VI) em cromo (III) no efluente. O modelo estatístico de regressão que explica a influência das variáveis estudadas na eficiência de conversão de cromo (VI) em cromo (III) do efluente, incluindo os parâmetros estatisticamente significativos ao nível de significância estudado (p<0,05), está apresentado na Equação 15.

$$\% \text{Convers\~{a}o}_{\text{Cr(III)efluente}} = 91,36 + 1,29 \cdot X_2 \quad (15)$$

Figura 15: Superfície de resposta da conversão de cromo (VI) em cromo (III) no efluente em função das variáveis do PFC 2<sup>2</sup>



A superfície de resposta apresentada na Figura 15 confirma o efeito negativo para  $X_1$  (concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI)) e positivo para  $X_2$  (concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição) apresentados na Tabela 26, demonstrando que os melhores resultados de conversão do cromo (VI) em cromo (III) no efluente foram obtidos no menor nível da variável  $X_1$  e no maior nível da variável  $X_2$ .

As Tabelas 27 e 28 apresentam a análise de variância do modelo de regressão gerado, os efeitos estimados e os coeficientes de regressão da influência das variáveis do PFC sobre a parcela de cromo total retido na biomassa.

Tabela 27: Análise de variância do modelo de regressão gerado a partir da influência das variáveis do PFC 2<sup>2</sup> sobre a retenção de cromo total na biomassa

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado	F crítico
Regressão	14,50	4	3,62	7,59	3,63
Erro	4,95	9	0,47		
Soma dos quadrados totais (SS)	19,45	13			

Tabela 28: Análise de Variância do modelo de regressão gerado a partir das variáveis do PFC  $2^2$  sobre a retenção de cromo total na biomassa

Fonte de variação	Coefficientes de regressão	Efeitos estimados	Nível de significância (p)
Média	8,48	8,48	0,00
X <sub>1</sub>	0,92	0,67	0,19
X <sub>2</sub>	12,50	-2,50	0,0006
X <sub>1</sub> .X <sub>2</sub>	1,07	0,73	0,16

$$R^2 = 77\%; R^2_{\text{ajustado}} = 68\%$$

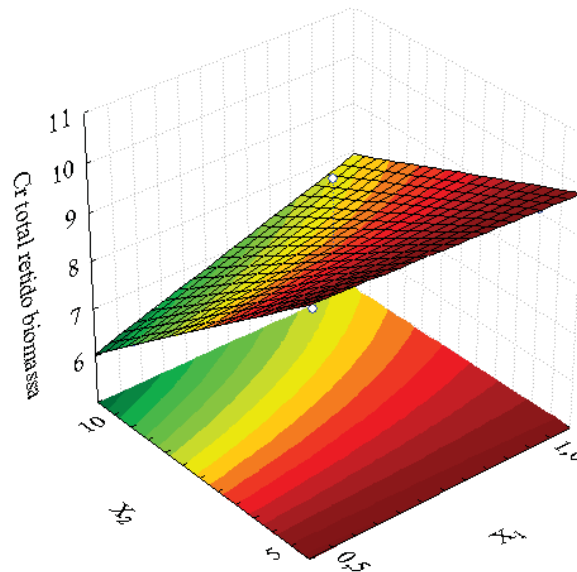
**X**<sub>1</sub> = concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI) (g. L<sup>-1</sup>); **X**<sub>2</sub> = concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição (mg. L<sup>-1</sup>).

Observando-se a Tabela 28 percebe-se que somente a variável X<sub>2</sub> (concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição) apresentou efeito significativo ao nível de significância estudado ( $p < 0,05$ ). A variável X<sub>1</sub> (concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI)), bem como a interação entre essas variáveis (X<sub>1</sub>.X<sub>2</sub>), não apresentaram efeitos significativos sobre o percentual de cromo total retido na biomassa ( $p = 0,19$  e  $p = 0,16$ , respectivamente). A variável X<sub>2</sub> apresentou efeito negativo (-2,50070) indicando que os melhores valores de retenção de cromo total na biomassa foram obtidos quando foram adicionadas maiores concentrações de cromo (VI) aos cultivos, sendo que essa variável (X<sub>2</sub>) apresentou efeito cerca de 3,5 vezes superior ao efeito apresentado pela variável X<sub>1</sub>, demonstrando que a concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição exerceu maior influência no resultado de retenção de cromo total na biomassa. O modelo estatístico de regressão que explica a influência das variáveis estudadas no percentual de retenção de cromo total na biomassa, incluindo os parâmetros estatisticamente significativos ao nível de significância estudado ( $p < 0,05$ ), está apresentado na Equação 16.

$$\%Cr(\text{total})_{\text{biomassa}} = 8,48 - 1,25 \cdot X_2 \quad (16)$$

A validação da superfície de resposta considera que o valor do R<sup>2</sup> (78%) é razoável para essa análise e que o F<sub>calculado</sub> (7,59) superior ao F<sub>crítico</sub> (3,63), mesmo não havendo interação significativa ao nível de significância estudado entre as variáveis X<sub>1</sub> e X<sub>2</sub>, pode-se validar a superfície de resposta, pois, a mesma representa as variações explicadas pelo modelo estatístico, validando a superfície de resposta obtida e apresentada na Figura 16.

Figura 16: Superfície de resposta da retenção de cromo total na biomassa em função das variáveis do PFC 2<sup>2</sup>



A superfície de resposta apresentada na Figura 16 confirma o efeito positivo para X<sub>1</sub> (concentração celular antes da primeira adição de cromo (VI)) e negativo para X<sub>2</sub> (concentração de cromo (VI) adicionada a cada nova adição) apresentados na Tabela 28, demonstrando que os melhores resultados de retenção de cromo total na biomassa foram obtidos no maior nível da variável X<sub>1</sub> e no menor nível da variável X<sub>2</sub>.

#### 4.3 Avaliação dos resultados de bio sorção de cromo (VI)

Após a explanação e discussão em torno dos resultados obtidos nos processos de bio sorção passiva (biomassa inativa) e bio sorção ativa (biomassa ativa), ficou comprovado que a biomassa da microalga *S. platensis* possui capacidade de remover cromo (VI) de soluções aquosas.

A biomassa inativa apresentou capacidade bio sortiva de cromo (VI). Os resultados obtidos apresentam potencial prático de aplicação da biomassa inativa da *S. platensis* no tratamento de efluentes contendo cromo (VI), pois, aliou uma alta taxa de remoção com uma pequena quantidade de biomassa, indicando vantagens na relação do custo-benefício do processo, reduzindo gastos com aquisição da biomassa e com o tratamento e disposição final adequada da biomassa contaminada.



Em quantidades mais elevadas de biomassa também se obteve resultados satisfatórios de remoção de cromo (VI), porém, o acréscimo demasiado de biomassa pode gerar uma quantidade elevada de material contaminado, elevando os custos com tratamento e disposição final e podendo comprometer a relação custo-benefício do processo, quando comparado com outras técnicas.

Outro fato que agrega vantagens econômicas na utilização da biomassa inativa é a possibilidade dessa apresentar uma rápida captação do metal, sendo que nesse estudo observou-se que logo nos primeiros 10 min do processo houve a captação de um valor superior a 50% (vide Figura 9), conferindo rapidez e eficiência ao processo.

Também se deve considerar, no processo de bioissorção passiva, que o processo não é governado por induções fisiológicas, sendo que a produção de biomassa é independente e o metal não apresenta limitações toxicológicas ao micro-organismo em função da sua toxicidade.

No processo ativo de bioissorção (biomassa ativa), houve remoção de cromo (VI), sendo parte desse convertido em cromo (III) uma forma menos tóxica do metal. Na biomassa, todo o metal retido ficou na forma de cromo (III), indicando o potencial da biomassa ativa da *S. platensis* para remoção e conversão do cromo hexavalente em trivalente. Esse fato enaltece a função ambiental que essa microalga pode representar, removendo e convertendo espécies tóxicas em formas que apresentam menor potencial de contaminação e degradação do meio ambiente.

Considerando que a biomassa possa ser obtida a partir do crescimento em meios líquidos contendo efluentes, quando o micro-organismo se adapta ao meio em que está inserido, tende a se reproduzir aumentando a população microbiana. Com isso, novas células surgem abastecendo constantemente o sistema. Aliado a isso, tem-se que existe a possibilidade de manipulação genética da biomassa, bem como a possibilidade de utilização de consórcios microbianos para elevar a eficiência do processo.

Outro fato inerente ao processo de bioissorção ativa é a força de ligação entre a biomassa e o metal, uma vez que, quando o metal está aprisionado intracelularmente na biomassa, a possibilidade que ele venha a ser desorvido torna-se remota, evitando que este seja liberado novamente para a solução.

## 5 CONCLUSÃO

Os ensaios de bioissorção passiva atingiram remoção de cromo (VI) em torno de 60%, sendo que a variável que apresentou maior influência no processo foi o pH, com melhores resultados de bioissorção de cromo (VI) obtidos em pH 3. O processo atingiu altos índices de remoção de cromo (VI) nos primeiros 10 min de reação indicando o grande potencial da biomassa microalgal para uso em processos de bioissorção. A capacidade adsortiva atingida pela biomassa inativa da *Spirulina platensis* foi de 100,39 mg de cromo (VI) por g de biomassa.

Nos ensaios de bioissorção ativa (biomassa viva) os índices de remoção de cromo (VI) atingiram 65,23%. Nesses ensaios a concentração total de cromo (VI) adicionada ao meio apresentou maior influência no processo de remoção, sendo que em menores concentrações do metal adicionada ao meio obteve-se melhor eficiência no processo. Do total de cromo (VI) removido, 90,42% foi transformado em cromo (III) remanescente no efluente e 9,58% ficou retido na biomassa, demonstrando que a biomassa ativa da *S. platensis* possui potencial para remoção e conversão do cromo (VI) em cromo (III).

No cultivo da *S. platensis* observou-se que a presença do metal no meio afetou o crescimento celular da microalga. Os melhores índices de crescimento microalgal foram observados nos cultivos com menor concentração de cromo (VI) adicionada. Esse fato demonstra que a presença do metal em concentrações elevadas pode ter causado toxicidade ao micro-organismo, comprometendo o seu crescimento.

Observou-se nos ensaios de bioissorção que tanto a biomassa inativa quanto a biomassa ativa apresentaram capacidade de remoção de cromo (VI), sendo que, a biomassa inativa apresentou vantagem em relação à biomassa ativa em função da possibilidade de tratamento de soluções com concentrações mais elevadas do metal, uma vez que no processo ativo de bioissorção a concentração de cromo interferiu no desenvolvimento da biomassa e concentrações elevadas desse metal poderia ocasionar o estresse celular e comprometer o processo bioissorativo. Com os resultados obtidos, considera-se que a microalga apresenta importância para o uso em aplicações ambientais.

### 5.1 Sugestões para trabalhos futuros

Com a possibilidade de futuramente inserir o processo de bioissorção no mercado industrial, como tecnologia complementar aos processos de tratamento de efluentes, são

apresentadas algumas sugestões para desenvolvimento de novos estudos que aprofundem e aperfeiçoem as condições testadas acrescentando eficiência ao processo.

a) Testar outros tipos de biomassas microbianas no processo de remoção de metais, bem como outros tipos de metais que apresentam toxicidade ao meio ambiente e a saúde.

b) Realizar ensaios com diferentes concentrações de biomassa e de metal.

c) Realizar ensaios com efluentes reais e testar diferentes configurações dos biorreatores no processo biossortivo.

d) Aprofundar os estudos de biossorção passiva com a *S. platensis* a fim de conhecer a cinética de adsorção e construção da isoterma de adsorção.

e) Realizar pré-tratamento (químico e/ou físico) na biomassa para verificar a possibilidade de elevação dos índices de remoção de metais.

f) Realizar estudos de adsorção em leito fixo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALDE J. et. al. **Microalgas: Cultivos y Aplicaciones**. 1ª Ed. Universidade da Coruña, Espanha, 1995. 210 p.
- ADITYA, G. V. V.; PUJITHA, B. P.; BABU, N. C.; VENKATESWARLU, P. Biosorption of chromium onto *Erythrina variegata orientalis* leaf powder. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 29, n. 1, p. 64-71, 2012.
- AGUIAR, M. R. M. P.; NOVAES, A. C. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. **Química Nova**, v. 26, n. 6B, p. 1145-1154, 2002.
- AMORIM, W. B. **Estudo do processo de dessorção de cromo hexavalente presente em algas marinhas provenientes do processo de biossorção**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP. 2000.
- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, 2008.
- ANEJA, R. K.; CHAUDHARY, G.; AHLUWALIA, S. S.; GOYAL, D. Biosorption of  $Pb^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  by non-living biomass of *Spirulina sp.* **Indian Journal Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 438-442, 2010.
- ANUSHREE, M. Metal bioremediation through growing cells. **Environment International**, v. 3, p. 261-278, 2004.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 ed. Washington, DC, 2000.
- ARUNAKUMARA, K. K. I. U.; XUECHENG, Z. How Does Lead ( $Pb^{2+}$ ) at Low Concentrations Affect on *Spirulina (Arthrospira) platensis*. **Tropical Agricultural Research & Extension**, v.10, p. 47-52, 2007.
- BAIRD, C. **Química Ambiental**. Trad. de M. A. L. Recio, L. C. M. Carrera. 2ª Ed. Porto Alegre – RS: Bookman, 2002.
- BARROS, A. J. M. Estudo da formação de complexos pelo processo de biossorção. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 2006.
- BARROS, M. A. S. D.; ARROYO, P. A.; SOUSA-AGUIAR, E. F.; GARCIA, P. A. **Problemas Ambientais com Soluções Catalíticas. I. O cromo no processamento de peles**. Madri: CYTED, 2001. 185 p.
- BATISTA, F. G. A.; FREIRE, J. A. Avaliação de metais pesados no corpo aquático do Açude Velho, Campina Grande – Paraíba. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 7, n. 4, p. 166-179, 2010.
- BAYER, V. **Estudo da extração de cromo hexavalente, pela técnica de membranas líquidas surfatantes, visando o tratamento de efluentes líquidos de curtumes**. Dissertação

(Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte - MG, 2005.

BELOKOBYSKY, A. I.; GINTURI, E. I.; KUCHAVA, N. E.; KIRKESALI, E. I.; MOSULISHVILI, L. M.; FRONTASYEVA, M. V.; PAVLOV, S. S.; AKSENOVA, N. G. Accumulation of selenium and chromium in the growth dynamics of *Spirulina platensis*. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 259, n. 1, p. 65-68, 2004.

BEZERRA, L. R.; SILVA, A. M. A.; AZEVEDO, S. A.; MENDES, R. S.; MANGUEIRA, J. M.; GOMES, A. K. A. Desempenho de cordeiros santa Inês submetidos a aleitamento artificial enriquecido com *Spirulina platensis*. **Revista Brasileira de Ciências Animais**, v. 11, n. 2, p. 258-263, 2010.

BUENO, B. Y. M. **Remoção de PB, Cr e Cu por processo combinado biossorção/bioflotação utilizando a cepa *Rhodococcus opacus***. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais), Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ, 2007.

CAMARGO, F. A. O.; OKEKE, B. C.; BENTO, F. M.; FRANKENBERGER, W. T. Diversity of chromium-resistant bacteria isolated from soils contaminated with dichromate. **Applied Soil Ecology**, v. 29, n. 2, p. 193-202, 2005.

CAMERA, A. S. Estudo da especiação do cromo no processo de adsorção por carvão ativado usando a espectroscopia de emissão de raios X K $\beta$ . Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Toledo – PR, 2011.

CANUTO, M. F. C. S.; FERREIRA, J. M.; DA SILVA, F. L. H.; ALSINA, O. L. S.; OLIVEIRA, L. S. C.; CAVALCANTE, E. B.; GOMES, W. C.; MEDEIROS, M. R. Remoção do íon metálico cádmio (Cd<sup>2+</sup>) utilizando resíduo da indústria alcooleira. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 2, p. 29-33, 2007.

CAPELLI, B.; CYSEWSKI, G. R. Potential health benefits of *Spirulina* microalgae: A review of the existing literature. **Nutrafoods**, v. 9, n. 2, p. 19-26, 2010.

CARDOSO, A. S.; VIEIRA, G. E. G.; MARQUES, A. K. O uso de microalgas para obtenção de biocombustíveis. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 4, p. 542-549, 2011.

CARLETO, C. L. D.; KALINKE, C.; RODRIGUES, M. B. Recuperação de metais pesados oriundos de análises de demanda química de oxigênio (DQO), como contribuição ao processo de gestão de laboratórios de ensino, pesquisa e prestação de serviços da UTFPR – Campus Pato Branco. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 6, n. 1, 2011.

CARVALHO, T. V. **Biomateriais à base de quitosana de camarão e bactérias para remoção de metais traços e petróleo**. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

CELERE, M. S.; OLIVEIRA, A. S.; TREVILATO, T. M. B.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Metais presentes no chorume coletado no aterro sanitário de Ribeirão Preto, São Paulo, e sua relevância para saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, v. 23, n. 4, p. 939-947, 2007.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 294-306, 2007.

CONCEIÇÃO, D.; JACQUES, R.; BENTO, F.; SIMONETTI, A.; SELBACH, P.; CAMARGO, F. Redução de cromo hexavalente por bactérias isoladas de solos contaminados com cromo. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1661-1667, 2007.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. 2011. **Resolução Conama nº 430**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 19 de out. de 2012.

CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE - RS – CONSEMA/RS. 2011. **Resolução Consema nº 128**. Disponível em: [http://www.sema.rs.gov.br/conteudo.asp?cod\\_menu=216#](http://www.sema.rs.gov.br/conteudo.asp?cod_menu=216#). Acesso em: 19 de out. de 2012.

COSSICH, E. S. **Biossorção de cromo(III) pela biomassa da alga marinha *Sargassum sp.*** Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP. 2000.

COSSICH, E. S.; TAVARES, C. R. G.; SILVA, E. A.; RAVAGNANI, T. M. K. Capítulo VII: biossorção de cromo. Disponível em: <http://www.icp.csic.es/cyted/Monografias/MonografiasTeneria/capitulovii.htm>. Acesso em: 06 de jun. de 2012.

COTTA, J. A. O.; REZENDE, M. O. O.; PIOVANI, M. R. Avaliação do teor de metais em sedimento do Rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira – Petar, São Paulo, Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 40-45, 2006.

CRAPEZ, M. A. C.; BORGES, A. L. N.; BISPO, M. G. S.; PEREIRA, D. C. Biorremediação: Tratamento para Derrames de Petróleo. **Ciência Hoje**, v. 30, n. 179, p. 32-37, 2002.

DAL BOSCO, S.M.; JIMENEZ, R.S.; CARVALHO, W.A. Aplicação da zeólita na remoção de metais pesados de efluentes industriais: competição entre os cátions e processo de dessorção. **Eclética Química**, v.29, n.1, p.47-56, 2004.

DALCIN, M. G. **Redução de cromo hexavalente em filtro biológico de fluxo contínuo**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia - MG, 2009.

DAL MAGRO, C. **Remoção de cromo VI e DQO de meio de cultivo adicionado de efluente com elevada concentração de cromo a partir da microalga *Spirulina platensis***. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental). Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo – RS, 2010.

DAL MAGRO, C.; COLLA, L. M.; HEMKEMEIER, M. **Remoção de cromo VI e DQO de meio de cultivo adicionado de efluente com elevada concentração de cromo a partir da microalga *Spirulina platensis***. In: Anais do XVIII SINAFERM, Caxias do Sul – RS, 2011.

DAL MAGRO, C.; DEON, M. C.; DE ROSSI, A.; REINEHR, C. O.; HEMKEMEIER, M.; COLLA, L. M. Chromium (VI) biosorption and removal of chemical oxygen demand by *Spirulina platensis* from wastewater-supplemented culture medium. **Journal of**

**Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 47, p. 1818-1824, 2012.

DAMIANI, A. P. **Metais pesados e danos no DNA de células sanguíneas de morcegos insetívoros em área de mineração de carvão da Bacia Carbonífera Catarinense**. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas Bacharelado), Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2010.

DAS, N.; VIMALA, R.; KARTHIKA, P. Biosorption of heavy metals - An Overview. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 159-169, 2008.

DEL RIO, D. T. **Biossorção de cádmio por levedura *Saccharomyces cerevisiae***. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

DERMOU, E.; VELISSARIOU, A.; XENOS, D.; VAYENAS, D. V. Biological removal of hexavalent chromium in trickling filters operating with different filter media types. **Desalination**, v. 211, p. 156-163, 2007.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

DESMORIEUX, H., NADÈGE, D. Convective drying of *Spirulina* in thin layer. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p. 497–503, 2005.

DOSHI, H.; RAY, A.; KOTHARI, I. L. Bioremediation potential of live and dead *Spirulina*: Spectroscopic, kinetics and SEM studies. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 96, n. 6, p. 1051-1063, 2007.

DOSHI, H.; SETH, C.; RAY, A.; KOTHARI, I. L. Bioaccumulation of Heavy Metals by Green Algae. **Current Microbiology**, v. 56, p. 246-255, 2008.

DOTTO, G. L.; CADAVAL, T. R. S.; PINTO, L. A. A. Preparation of bionanoparticles derived from *Spirulina platensis* and its application for Cr (VI) removal from aqueous solutions. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 18, p. 1925-1930, 2012.

DUARTE, M. A. I. **Poluentes Orgânicos Persistentes**. Pós – Graduação em Gestão Ambiental. Universidade do Rio de Janeiro (UFRJ). Rio de Janeiro – RJ, 2002.

FAGUNDES-KLEN, M. R.; VEIT, M. T.; SILVA, E. A.; BERGAMASCO, R.; MARTINS, T. D.; CANEVESI, R. L. S. Modelagem do efeito do pH na biossorção de metais pela alga marinha *Sargassum filipendula*. **Acta Scientiarum Technology**, v. 33, n. 4, p. 439-446, 2011.

FALONE, S. Z.; VIEIRA, E. M. Adsorção/dessorção do explosivo tetрил em turfa e em argissolo vermelho amarelo. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 849-854, 2004.

FERRAZ, A., TAVARES, M., TEIXEIRA J. Cr(III) removal and recovery from *Saccharomyces cerevisiae*. **Chemical Engineering Journal**, v. 105, p. 11-20, 2004.



FERREIRA, L. S. **Estudo da intensidade luminosa no cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis* em reator tubular utilizando sulfato de amônio como fonte de nitrogênio por processo descontínuo alimentado**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 2008.

FERREIRA, J. M.; SILVA, F. L. H.; ALSINA, O. L. S.; OLIVEIRA, L. S. C.; CAVALCANTI, E. B.; GOMES, W. C. Estudo do equilíbrio e cinética da bioissorção do  $Pb^{2+}$  por *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1188-1193, 2007.

FREITAS, T. C. M.; MELNIKOV, P. O uso e os impactos da reciclagem de cromo em indústrias de curtume em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 11, n. 4, p. 305-310, 2006.

FURTADO, J. G. C. **Estudo de impactos ambientais causados por metais pesados em água do mar na Baía de São Marcos: correlações e níveis background**. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

GASTALDO, J.; VIAU, M.; BOUCHOT, M.; JOUBERT, A.; CHARVET, A.; FORAY, N. Induction and repair rate of DNA damage: A unified model for describing effects of external and internal irradiation and contamination with heavy metals. **Journal of Theoretical Biology**, v. 251, n. 1, p. 68-81, 2008.

GILES C.; MACEWAN T.H.; NAKHWA, S.N.; SMITH, D. A system of classification of solution adsorption Isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. **Journal of the Chemical Society**, p. 3973-3993, 1960.

GÓES FILHO, L. S. **Estudo do efeito de solventes nas propriedades espectroscópicas do antibiótico norfloxacin: absorção, fluorescência estacionária e resolvida no tempo**. Tese (Doutorado em Física) Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – RJ, 2010.

GOKHALE, S. V.; JYOTI, K. K.; LELE, S. S. Modeling of chromium (VI) biosorption by immobilized *Spirulina platensis* in packed column. **Journal of Hazardous Materials**, v. 170, n. 2-3, p. 735-743, 2009.

GOMES, N.C.M.; MENDONÇA-HAGLER, L.C.S.; SAVVAIDIS, I. Metal bioremediation by microorganisms. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 29, p. 85-92, 1998.

GUEDES, J. A.; LIMA, R. F. S.; SOUZA, L. C. Metais pesados em águas do Rio Jundiá – Macaíba/RN. **Revista de Geologia**, v. 18, n. 2, p. 131-142, 2005.

GUO L.; YANG, J. Y.; WU, C. F. Oxidative DNA Damage Induced by Ethanol in Mouse Peripheral Leucocytes. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 103, n. 3, p. 222-227, 2008.

GUPTA, V. K.; SHRIVASTANA, A. K.; JAIN, N. Biosorption of chromium (VI) from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species. **Water Research**, v. 35, n. 17, p. 4079-4085, 2001.



HAYASHI, A. M. **Remoção de cromo hexavalente através de processos de biossorção em algas marinhas**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2001.

HOLANDA, L. R.; RAMOS, F. S.; MEDEIROS, E. R. C.; SANTOS, J. D. **O cultivo de microalgas para geração de eletricidade**. In: VII Congresso Nacional de Excelência em Gestão, 2011, Rio de Janeiro. Anais do VII CNEG, 2011.

JANEGITZ, B. C.; LOURENÇÃO, B. C.; LUPETTI, K. O.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 879-884, 2007.

JEAMTON, W.; DULSAWAT, S.; LAOTENG, K.; TANTICHAROEN, M.; CHEEVADHANARAK, S. Phycocyanin promoter of *Spirulina platensis* controlling heterologous expression in cyanobacteria. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 83-88, 2011.

JESUS, J.; SANTOS, S.; RODRIGUES, A. L. Metais pesados na água. **Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária**, v. 4, p. 18-22, 2011.

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

KAUSHIK, R.; MARWAH, R. G.; GUPTA, P.; SARAN, S.; SASO, L.; PARMAR, V. S.; SAXENA, R. K. Optimization of Lipase Production from *Aspergillus terreus* by Response Surface Methodology and Its Potential for Synthesis of Partial Glycerides Under Solvent Free Conditions. **Indian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 456-462, 2010.

KHANI, M. H.; PAHLAVANZADEH, H.; ALIZADEH, K. Biosorption of strontium from aqueous solution by fungus *Aspergillus terreus*. **Environmental Science and Pollution Research**, 2012. DOI 10.1007/s11356-012-0753-z.

KIELING, A. G.; MORAES, C. A. M.; BREHM, F. A. Utilização de cinza de casca de arroz na remoção de cromo hexavalente. **Estudos Tecnológicos**, v. 5, n. 3, p. 351-362, 2009.

KORF, E. P.; MELO, E. F. R. Q.; THOMÉ, A.; ESCOSTEGUY, P. A. V. Retenção de metais em solo da antiga área de disposição de resíduos sólidos urbanos de Passo Fundo – RS. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 2, n. 2, p. 43-60, 2008.

KORF, E. P. **Comportamento hidráulico e reativo de uma mistura solo-cimento para aplicação em barreiras de contenção de resíduos ácidos contendo chumbo e cádmio**, 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre - RS, 2011.

KORZENOWSKI, C. **Estudo da recuperação de soluções de cromo hexavalente contendo íons Al(III) e Fe(III) através da eletrodialise e efeito da incorporação dos íons na degradação de membranas catiônicas**. 2007. Tese (Doutorado em Engenharia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS. 2007.

- KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B. Advances in the Biosorption of Heavy Metals. **Tibtech**, v. 16, p. 291-300, 1998.
- KOTRBA, P.; MACHOVA, M.; MACEK, T. (2011) **Microbial biosorption of metals**. DOI 10.1007/978-94-007-0443-5.
- KUYUCAK, N., VOLESKY, B. Biosorbents for recovery of metais from industrial solutions. **Biotechnology Letters**, v .10, n.2, p.137-142, 1988.
- KUMAR, J. I. N.; OOMMEN, C.; KUMAR, R. N. Biosorption of Heavy Metals from Aqueous Solution by Green Marine Macroalgae from Okha Port, Gulf of Kutch, India. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 6, n. 3, p. 317-323, 2009.
- LAVARDA, F. L. **Estudo do potencial de biossorção dos íons Cd (II), Cu (II) e Zn (II) pela macrófita *Eichhornia crassipes***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo – PR, 2010.
- LELES, D. M. A. **Uso de biofiltros para remoção de cromo (VI)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG, 2010.
- LEÓN, I. A. A. **Estudo do cultivo de *Spirulina platensis* por processo contínuo com uréia como fonte de nitrogênio**. 2010. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica). Universidade de São Paulo (USP), São Paulo – SP, 2010.
- LU, Y.; XIANG, W.; WEN, Y. *Spirulina (Arthrospira)* industry in Inner Mongolia of China: current status and prospects. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 265-269, 2011.
- LUNARDI, M. M.; DOS SANTOS, F. A.; CANTELLI, M. **Tratamento de efluente de indústria metalúrgica com uso de biossorventes naturais para remoção de metais pesados**. In: X Salão de Iniciação Científica, PUCRS, 2009.
- MAGALHÃES, E. J. **Sorção de ametryn em frações de solo associadas à matéria orgânica**. Dissertação (Mestrado em Agroquímica), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2007.
- MALIK, U., HASANY, S., E SUBHANI, M. Sorptive potential of sunflower stem for Cr(III) ions from aqueous solutions and its kinetic and thermodynamic profile. **Talanta**, v. 1, p. 166-173, 2005.
- MANE, P. C.; BHOSLE, A. B.; JANGAM, C. M.; VISHWAKARMA, C. V. Bioadsorption of Selenium by Pretreated Algal Biomass. **Advances in Applied Science Research**, v. 2, n. 2, p. 202-207, 2011.
- MANOSALVA, L. I. A. **Remoción de metales pesados por médio de adsorbentes no convencionales**. Tese (Doutorado em Ciências de Recursos Naturales), Universidad de La Frontera, Temuco – Chile, 2008.

- MARTIN, N. **Estudo da redução de Cr(VI) usando espécies de macrófitas aquáticas vivas pela técnica de fluorescência de raios X de alta resolução**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo – PR, 2008.
- MATSUDO, M.C.; BEZERRA, R.P.; SATO, S.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; CARVALHO, J.C.M. Repeated fed-batch cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* using urea as nitrogen source. **Biochemical Engineering Journal**, v. 43, n. 1, p. 52-57, 2009.
- MAUS, V. W.; COSTA, A. B.; RIGHES, A. A. tratamento do lixiviado de aterro de resíduos sólidos urbanos por processo Fenton. **Tecnológica**, v. 13, n. 1, p. 52-59, 2009.
- MELO, E. F. R. Q.; MENEGHETTI, L. R. R.; ASTOLFI, R. M.; CAVELHÃO, G. Atenuação natural do solo de cobertura em um aterro de resíduos sólidos urbanos em Passo Fundo, RS. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 4, n. 2, p. 5-16, 2010.
- MERLINO, L. C. S.; MELO, W. J.; MACEDO, F. G.; GUEDES, A. C. T. P.; RIBEIRO, M. H.; MELO, V. P.; MELO, G. M. P. Bário, Cádmio, Cromo e Chumbo em plantas de milho e em latossolo após onze aplicações anuais de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 2031-2039, 2010.
- MESQUITA, L. M. S.; PINTO, G. S.; CUNHA, C. D.; LEITE, S. G. F. Aplicação de microorganismos no tratamento de resíduos: a remoção de metais pesados de efluentes líquidos. **Methodus: revista científica e cultural**, v. 3, n. 5, p. 131-144, 2001.
- MEZZOMO, N.; SAGGIORATO, A. G.; SIEBERT, R.; TATSCH, P. O.; LAGO, M. C.; HEMKEMEIER, M.; COSTA, J. A. V.; BERTOLIN, T. E.; COLLA, L. M. Cultivation of microalgae *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) from biological treatment of swine wastewater. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 173-178, 2010.
- MICHALAK, I.; SAEID, A.; CHOJNACKA, K. The effect of increase in concentration of Na(I) ions on biosorption of Cr(III) ions by *Enteromorpha prolifera* and *Spirulina sp.* **Central European Journal of Chemistry**, v. 11, n. 2, p. 313-319, 2013.
- MÓDENES, A. N.; PIETROBELLI, J. M. T. A.; QUIÑONES, F. R. E.; SUZAKI, P. Y. R.; ALFLEN, V. L.; KLEN, M. R. S. F. Potencial de biosorção do zinco pela macrófita *Egeria densa*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 4, p. 465-470, 2009.
- MONTANHER, S. F. **Utilização da biomassa de bagaço de laranja como material sorvente de íons metálicos presentes em soluções aquosas**. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.
- MONTEIRO, M.P.C.; LUCHESE, R.H.; ABSHER, T.M. Effect of Three Different Types of Culture Conditions on *Spirulina maxima* Growth. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 2, p. 369-373, 2010.
- MONTEIRO, C. M.; CASTRO, P. M. L.; MALCAT, F. X. Biosorption of zinc ions from aqueous solution by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Environmental Chemistry Letters**, v. 9, p. 169-176, 2011.

- MONTOYA, C.; BOTERO, L.; MUÑOZ, D.; JARAMILLO-LONDOÑO, J. C. **Bioprospección de microalgas nativas copotencial biotecnológico**. In: IV Seminário Internacional de Gestión Ambiental, 2011, Medellín. Anais do IV SIGA, 2011.
- MOREIRA, A. S.; DUARTE, M. M. L.; MACEDO, G. R.; NANDENHA, J. **Biossorção do ferro presente em óleo lubrificante usado pelo *Sargassum* sp.** In: 4º PDPETRO, Campinas, SP. 21-24 de Out. de 2007.
- MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 15, n. 2, p. 119-129, 2004.
- MOUNTOURIS, E.; VOUTSAS, A; TASSIOS, D. Bioconcentration of heavy metals in aquatic environments: the importance of bioavailability. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, n. 10, p. 1136-1141, 2002.
- MUNIZ, K. P. M. S.; CASTILHOS, Z. C.; EGLER, S. G.. **Bioensaio de toxicidade aguda com o oligoqueta *Eisenia foetida* utilizando o Cromo (VI) como substância-teste**. XIV Jornada de Iniciação Científica. CETEM - Rio de Janeiro , 2006.
- MURALIDHAR, R. V.; CHIRUMAMILA, R. R.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindracea* using two diferente carbono sources. **Biochemical Engineering Journal**, v. 9, p. 17-23, 2001.
- MURUGESAN, A. G.; MAHESWARI, S.; BAGIRATH, B. Biosorption of cadmium by live and immobilized cells of *Spirulina platensis*. *International Journal of Environmental Research*, v. 2, n. 3, p. 307-312, 2008.
- NAJA, G. E VOLESKY, B. Behavior of the mass transfer zone in a biosorption column. **Environmental Science & Technology**, v. 40, p. 3996-4003, 2006.
- OLIVEIRA, E. G. **Secagem de *Spirulina platensis*: análise das técnicas de leito de jorro e camada delgada**. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande – RS, 2006.
- OLIVEIRA, M.; PRADO, E. A. **Tratamento de Efluentes Líquidos gerados nas Indústrias de Tingimento de Águas em Soledade, Rio Grande Do Sul**. In: VI Semana Acadêmica da Química. Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo – RS, 2008.
- OLIVEIRA, S. D., LEMOS, J. L. S., BARROS, C. A. e LEITE, S. G. F. Emprego de fungos filamentosos na biorremediação de solos contaminados por petróleo: Estado da Arte. – Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008.
- PAGNANELLI, F.; ESPOSITO, A.; TORO, L., VEGLIO, F. Metal speciation and pH effect on Pb, Cu, Zn and Cd biosorption onto *Sphaerotilus natans*: Langmuirtype empirical modelo. **Water Research**, n. 37, p. 627–633. 2003.
- PANIGATTI, M. C.; GRIFFA, C.; BOGLIONE, R.; GENTINETTA, F.; CASSINA, D. Uso de *Escherichia coli* para biorremediación de efluentes contaminados por cromo (VI). **Avances en Ciencias e Ingeniería**, v. 3, n. 2, p. 11-24, 2012.

PASCALLICCHIO, A. E. **Contaminação por Metais Pesados: Saúde Pública e Medicina Ortomolecular**. São Paulo: Anna Blume, 2002.

PÉREZ, H. E. B. **Biodiesel de microalgas**. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, p. 1-19, 2007.

PERTUSATTI, J. **Aspectos físico-químicos da protonação e desprotonação da superfície do ácido húmico**. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade de Brasília – DF, 2007.

PIETROBELLI, J. M. T. A.; MÓDENES, A. N.; KLEN, M. R. S. F.; QUIÑONES, F. R. E. Cadmium, copper and zinc biosorption study by non-living *Egeria densa* biomass. **Water Air Soil Pollution**, v. 202, p. 385-392, 2009.

PIETROBELLI, J. M. T. A.; MÓDENES, A. N.; SUZAKI, P. Y. R.; ALFLEN, V. L.; COLOMBO, A. **Utilização da macrófita *Egeria densa* na biossorção do íon Cd (II)**. In: I Simpósio de Inovação Tecnológica – SITEC. Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Cascavel – PR, 2008.

PIMENTEL, M. A. S. **Controle da dosagem de metabissulfito de sódio em efluentes contendo cromo hexavalente**. Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz. Ministério da Saúde. Rio de Janeiro – RJ. 2003.

PINHO, M. A.; TORRES, R. C. O.; SANT'ANNA, E. S. Fontes alternativas de nutrientes para o cultivo de *Arthrospira (Spirulina)* spp. **B.CEPPA**, v. 28, n. 1, p. 159-168, 2010.

PINO, G. H.; TOREM, M. L. Aspectos fundamentais da biossorção de metais não ferrosos – estudo de caso. **Tecnol. Metal. Mater. Miner.**, v. 8, n. 1, p. 57-63, 2011.

PINOTTI, M. H. P.; SEGATO, R. Cianobactérias: importância econômica. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**. v. 12, n. 4, Londrina – PR. 1991.

PINTO, C. A. **Estudo da estabilização por solidificação de resíduos contendo metais pesados**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PIRETE, M. M.; DALCIN, M. G.; RESENDE, M. M. **Estudos preliminares de adaptação de uma cultura mista para a redução biológica de cromo (VI)**. In: XII Seminário de Iniciação Científica, Universidade Federal de Uberlândia - MG, 2008.

POSSA, M. V.; SANTOS, M. D. C. **Tratamento de drenagem ácida de mina por processo de neutralização controlada**. In: Seminário Brasil-Canadá de Recuperação Ambiental de Áreas Mineradas, v. 1, p. 233-252, Florianópolis – SC, 2003.

POSSATTO, A. R. **Microalgas como matéria-prima para produção de biodiesel: uma revisão**. Monografia (Pós-graduação *latu-sensu* em Biocombustíveis), UNIJUÍ, Ijuí, 2009.

PRADO, E. A.; SIGNOR, D. **Planejamento fatorial aplicado a reação de remoção de cromo presente em efluente de indústrias de tingimento de pedras**. In: 49º Congresso Brasileiro de Química. Porto Alegre – RS, 2009.



QUINTELAS, C.; FERNANDES, B.; CASTRO, J.; FIGUEIREDO, H.; TAVARES, T. Biosorption of Cr(VI) by three different bacterial species supported on granular activated carbon - A comparative study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 153, p. 799-809, 2008.

RAVEN, PETER H.; EVERT, RAY FRANKLIN; EICHHORN, SUSAN E. **Biologia vegetal**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 830 p.

RIBEIRO, I. C. M.; ROSOLEM, J. C.; GRUBHOFER, N. J.; ANDRADES, S. A. **Seminário Metais Pesados: O Cromo e o Meio Ambiente**. Centro Universitário Franciscano (UNIFAE) – Química Ambiental. Curitiba – PR. 2009.

ROCHA, E. R. L.; MARCATO, V. J.; COSSICH, E. S. **Biossorção de cromo por biomassa de *Saccharomyces cerevisiae***. In: VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Campinas – SP, 2005.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos** - 2ª Ed. – Campinas, SP: Editora Cárita, 2009. 358p.

RODRIGUEZ, R.; LINARES, R.; GUADALUPE, E. Adsorción y desorción de cromo hexavalente en relaves mineros. **Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG**, v. 12, n. 24, p. 108-117, 2009.

ROMERA, E.; GONZÁLES, F.; BALLESTER, A.; BLÁZQUEZ, M. L.; MUÑOZ, J. A. Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. **Bioresource Technology**, v.98, p. 3344-3353, 2007.

RUOTOLO, L. A. M.; GUBULIN, J. C. **Redução de cromo hexavalente utilizando-se filmes de polianilina. Estudo da distribuição de potencial no interior do eletrodo poroso**. Disponível em: <http://www.ufscar.br/~enemp2002/pi32.pdf> . Acesso em: 08 de jul. de 2010.

RUOTOLO, L.A.M.; GUBULIN, J.C. Reduction of hexavalent chromium using polyaniline films. Effect of film thickness, potential and flow velocity on the reaction rate and polymer stability. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 33, p. 1217-1222, 2003.

SAEED, A.; MUHAMMED, I.; AKHTAR, M. W. Removal and recovery of lead(II) from single and multimetal (Cd, Cu, Ni e Zn) solutions by crop milling waste (black gram husk). **Journal Hazardous Materials**, n. 117, p. 65-73. 2005.

SALGADO, P. E. T. Em **Fundamentos de toxicologia**. Oga, 2ª ed., Atheneu: São Paulo, 2003.

SANTOS, G. C. **Influência da competitividade de cromo, cádmio, níquel e chumbo nos parâmetros de transporte de contaminante no solo residual de basalto de Passo Fundo-RS**, 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia), Universidade de Passo Fundo, 2010.

SAQUETO, K. C.; ROSOLINO, R. M.; MACHADO, A. M. R.; SALVADOR, N. N. B. **Estudo comparativo na remoção de íons chumbo (II) de soluções aquosas por diferentes aluminossilicatos**. In: Anais do XLVI Congresso Brasileiro de Química, 2006, Salvador.

SARAVANAN, A.; BRINDHA, V.; MANIMEKALAI, R.; KRISHNAN, S. An evaluation of chromium and zinc biosorption by a sea weed (*Sargassum sp.*) under optimized conditions. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 53-56, 2009.

SCHENBERG, A. C. G. Biotecnologia e desenvolvimento sustentável. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, 2010.

SCHMITZ, R.; DAL MAGRO, C.; COLLA, L. M. Aplicações ambientais de microalgas. **Revista CIATEC – UPF**, v. 4, n. 1, p. 48-60, 2012.

SENGER, M. R. **Influência de metais tóxicos nas enzimas do sistema purinérgico e na acetilcolinesterase em sistema nervoso central do peixe zebra (*Danio rerio*)**. Tese (Doutorado em Bioquímica), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SILVA, C. S.; PEDROSO, M. F. M. Ecotoxicologia do Cromo e seus compostos. **Série Cadernos de Referência Ambiental**, v. 5, Salvador – BA. 2001.

SILVA, J. F. **Modelagem para remoção de metais pesados através de algas: análise para um componente em processos batelada e contínuos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas – SP. 2000.

SILVAS, F. P. C. Biotecnologia aplicada ao tratamento de drenagem ácida de mina. Dissertação (Mestrado em Engenharia), Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2010.

SIVA KIRAN, R. R.; MADHU, G. M.; SATYANARAYANA, S. V.; BINDIYA, P. Bioaccumulation of Cadmium in Blue Green Algae *Spirulina (Arthrospira) indica*. **Journal Bioremed Biodegrad**, v. 3, n. 3, p. 1-4, 2012.

SOUZA, R. F.; FAQUIN, V.; TORRES, P. R. F.; BALIZA, D. P. Calagem e adubação orgânica: influência na adsorção de fósforo em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 975-983, 2006.

TAHIR, S. S.; NASEEM, R. Removal of Cr(III) from tannery wastewater by adsorption onto bentonite clay. **Separation and Purification Technology**, v. 53, n. 3, p. 312-321, 2007.

TAVARES, T.M.; CARVALHO, F.M. Avaliação da exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do Recôncavo Baiano. **Química Nova**, v. 15, n. 2, p.147-153, 1992.

TEDESCO, C. **Remoção de cromo VI pela microalga *Spirulina platensis***. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo - RS, 2010.

TONANI, K. A. A. **Identificação e quantificação de metais pesados, parasitas e bactérias em esgoto bruto e tratado da Estação de Tratamento de Esgoto de Ribeirão Preto – SP**. Dissertação (Mestrado em Enfermagem em Saúde Pública), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

TONIETTO, A. E. **Especiação química de cobre e zinco nas águas do reservatório do Iraí: efeitos da matéria orgânica e interação com microalgas.** 2006. Dissertação (Mestrado em Química) Programa de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas. Universidade Federal do Paraná (UFPR). Curitiba – PR. 2006.

USEPA, U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1996. Method 3050B. Disponível em: <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3050b.pdf>. Acesso em: 01 abr. 2012.

VAGHETTI, J. C. P. **Utilização de biossorventes para a remediação de efluentes aquosos contaminados com íons metálicos.** Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

VEIMROBER Jr., L. A. A. **Utilização da microalga *Sargassum sp.* como adsorvente natural no controle de poluição por cobre em meio aquoso.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, 2010.

VIACELLI, J. B.; HEMKEMEIER, M.; COLLA, L. M. **Remoção de íons cádmio e chumbo de efluente sintético por microalga *Spirulina platensis*.** In: XVIII Mostra de Iniciação Científica, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo – RS, 2008.

VIEIRA, P. M. C. **Utilização de materiais de baixo custo (cascas de camarão) para remoção de crômio.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 2009.

VILAR, V. J. P. **Remoção de íons metálicos em solução aquosa por resíduos da indústria de extração de ágar.** Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade do Porto, Portugal, 2006.

VILAR, V. J. P.; BOTELHO, C. M. S.; BOAVENTURA, R. A. R. Environmental friendly technologies for wastewater treatment: biosorption of heavy metals using low cost materials and solar photocatalysis. **Earth and Environmental Science. Security of Industrial Water Supply and Management Nato Science for Peace and Security Series C: Environmental Security**, p. 159-173, 2011.

VOLESKY, B. **Biosorption of heavy metals**, Boca Raton, Flórida: CRC Press, 1990. 396 p.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R. Review bisorption of heavy metals. **Biotechnology Progress**, v. 11, p. 235-250, 1995.

VONSHAK, A. ***Spirulina platensis* (Arthrospira) Physiology, cell-biology and biotechnology.** London: Taylor & Francis, 1997, 252 p.

VON SPERLING, M. Análise dos padrões brasileiros de qualidade de corpos d'água e de lançamento de efluentes líquidos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 3, n. 1, p. 111-132, 1998.

WANG, X.; QUIN, Y. Equilibrium sorption isotherms for of Cu<sup>2+</sup> on rice bran. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 677-680, 2005.



ZAMPIN, I. C.; BUENO, P. F.; ROSATI, A. B. **Precipitação química de metais em águas residuárias tratadas pela microbiologia.** In: IV Simpósio em Microbiologia Aplicada. UNESP, Rio Claro – SP, 2009.

ZARROUK, C. **Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*.** Ph.D Thesis, Université de Paris, 1966.

## APÊNDICE A

Página inicial do artigo sobre aplicações ambientais da *Spirulina platensis* publicado na Revista CIATEC-UPF (2012).

Revista CIATEC – UPF, vol.4 (1), p.p.48-60, 2012

### APLICAÇÕES AMBIENTAIS DE MICROALGAS

#### ENVIRONMENTAL APPLICATIONS OF MICROALGAE

**Roberta Schmitz<sup>1</sup>, Clinei Dal Magro<sup>2</sup>, Luciane Maria Colla<sup>3\*</sup>**

<sup>1</sup>Bióloga. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia/Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Universidade de Passo Fundo. E-mail: roberta.schmitz@bol.com.br

<sup>2</sup>Engenheiro Ambiental. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia/Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Universidade de Passo Fundo. E-mail: clineidalmagro@gmail.com.

<sup>3</sup>Engenheira de Alimentos. Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos, Professora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia, Universidade de Passo Fundo. E-mail: lmcolla@upf.br.

\*Autor para correspondência: Campus I, Prédio L1, Universidade de Passo Fundo - BR 285, Bairro São José - Passo Fundo/RS, CEP: 99052-900 - Cx. Postal 611 - Fone: (54) 3316-8193

#### RESUMO

As microalgas tem sido foco de muitos estudos nos últimos anos tendo em vista sua grande aplicabilidade na indústria de alimentos e farmacêutica, nas áreas da biomedicina e ambiental. As aplicações ambientais das microalgas incluem a biofixação de CO<sub>2</sub>, remoção de matéria orgânica e metais tóxicos de efluentes, produção de biocombustíveis como biodiesel e bioetanol e na produção de moléculas de origem lipídica com capacidade surfactante entre outros. Dentre as microalgas estudadas, a *Spirulina platensis* tem apresentado grande potencial de utilização em todos esses setores com destaque especial na área ambiental. Objetivou-se revisar as principais aplicações ambientais dos cultivos microalgais, com ênfase para a microalga *Spirulina platensis*.

**Palavras-chave:** microalgas; aplicações ambientais; *Spirulina platensis*.

#### ABSTRACT

Microalgae have been focus of many studies in recent years due to its wide applicability in food and pharmaceutical industries and in biomedical and environmental areas. The environmental applications of microalgae include the biofixation of CO<sub>2</sub>, in the removal of organic matter and toxic metals from wastewater, in the biofuels production, as biodiesel and bioethanol, and in the production of lipid molecules with surfactant activity, among others. Among the studied microalgae, *Spirulina platensis* has shown great potential in all these sectors with particular emphasis in the environmental area. The objective was to review the main environmental applications of microalgae cultures, with emphasis on *Spirulina platensis*.

**Keywords:** microalgae, environmental applications, *Spirulina platensis*.

### 1. INTRODUÇÃO

A preocupação com as questões ambientais tem se tornado cada vez mais evidentes em função da demasiada utilização de recursos naturais em processos produtivos, acarretando assim, um elevado potencial de poluição desses recursos pelas indústrias (BARCELLOS et al., 2009).

A crescente demanda por produtos e serviços tem elevado drasticamente a atividade industrial, gerando cada vez mais resíduos e elevando a utilização dos recursos naturais, os quais estão tornando-se escassos e muitas vezes encontram-se poluídos e degradados (DAL MAGRO et al., 2011). Diante desse cenário, busca-se aliar desenvolvimento econômico com proteção ambiental, desenvolvendo-se novos produtos, novas alternativas de processos e técnicas eficientes no combate e remediação da poluição, tornando assim, a atividade industrial menos impactante ao meio ambiente.

## APÊNDICE B

Quadro 3: Concentração de biomassa ( $\text{g.L}^{-1}$ ) em função do tempo de cultivo (d)

Tempo	Experimentos						
	1	2	3	4	5	6	7
0	0,224	0,221	0,219	0,219	0,220	0,219	0,221
2	0,338	0,346	0,359	0,332	0,360	0,349	0,362
4	0,403	0,446	0,441	0,421	0,450	0,445	0,464
6	0,508	0,499	0,505	0,488	0,519	0,526	0,527
8	0,654	0,680	0,652	0,646	0,664	0,680	0,688
10	0,740	0,800	0,745	0,790	0,760	0,756	0,758
12	0,831	1,027	0,831	0,993	0,836	0,871	0,938
14	0,899	1,089	0,883	1,059	0,922	0,964	0,980
16	1,104	1,258	0,906	1,147	1,097	1,184	1,257
18	1,189	1,261	0,781	1,214	1,125	1,162	1,183
20	1,246	1,347	0,889	1,374	1,199	1,289	1,384
22	1,198	1,285	0,816	1,247	1,146	1,164	1,123
24	1,411	1,478	0,844	1,260	1,161	1,203	1,080
26	1,330	1,399	0,721	1,146	0,890	0,929	1,011
28	0,922	0,894	0,532	0,969	0,831	0,899	1,038
30		0,746		0,449	0,639	0,619	0,791

### APÊNDICE C

Quadro 4: Compilação dos resultados obtidos de remoção e conversão de cromo (VI) – biomassa e efluente – e formas de determinação e cálculos

Linha (L)	Variável	Forma de cálculo ou determinação	Experimentos do Planejamento Experimental						
			1	2	3	4	5	6	7
1	Cr (VI) inicial adicionado no meio na forma de solução de dicromato de potássio (mg)	-	32,5	32,5	65,0	65,0	48,75	48,75	48,75
2	Cr total final no efluente (mg)	Determinado	25,62	24,74	59,09	47,64	36,85	33,11	34,87
3	Cr total final na biomassa (mg)	Determinado	1,71	1,46	2,11	2,13	1,53	1,68	1,54
4	$\Sigma$ (Cr total final no efluente) + (Cr total final na biomassa) (mg)	$\Sigma$ (L2 e L3)	27,32	26,20	61,19	49,77	38,38	34,79	36,40
5	Cr total recuperado pelos métodos analíticos (%)	L4/L1	84,10	80,60	94,10	76,60	78,70	71,40	74,70
6	Cr (VI) final no efluente (mg)	Determinado	16,12	13,93	31,08	25,33	17,60	15,33	16,99
7	Cr (III) final no efluente (mg)	(L2 – L6)	9,50	10,81	28,01	22,30	19,25	17,78	17,87
8	Cr (VI) final na biomassa (mg)	Determinado	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	Cr (III) final na biomassa (mg)	(L3-L8)	1,71	1,46	2,11	2,13	1,53	1,68	1,54
10	Remoção Cr (VI) no efluente (%)	Equação 9	65,23	58,75	54,24	55,19	49,85	48,90	50,91
11	Transformação em Cr (III) no efluente (%)	Equação 10	90,42	90,48	93,66	92,25	92,00	90,08	91,71
12	Transformação em Cr (III) na biomassa (%)	Equação 11	9,58	9,52	6,34	7,75	8,00	9,92	8,29

ND: Não Detectado

## ANEXO A

Quadro 5: Composição química do meio Zarrouk (ZARROUK, 1966), padrão para cultivo da microalga *S. Platensis*

Reagente	Quantidade	Unidade de medida
NaHCO <sub>3</sub>	16,8	(g.L <sup>-1</sup> )
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5	(g.L <sup>-1</sup> )
NaNO <sub>3</sub>	2,5	(g.L <sup>-1</sup> )
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0	(g.L <sup>-1</sup> )
NaCl	1,0	(g.L <sup>-1</sup> )
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,2	(g.L <sup>-1</sup> )
CaCl <sub>2</sub>	0,04	(g.L <sup>-1</sup> )
FeSO <sub>4</sub> ·7HO	0,01	(g.L <sup>-1</sup> )
EDTA	0,08	(g.L <sup>-1</sup> )
Solução A <sub>5</sub>	1,0	(mL. L <sup>-1</sup> )
Solução B <sub>6</sub>	1,0	(mL. L <sup>-1</sup> )

A solução A<sub>5</sub> possui a seguinte composição (g.L<sup>-1</sup>): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>: 2,86; MnCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O: 1,81; ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O: 0,222; CuCO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O: 0,079; MnO<sub>3</sub>: 0,015.

A solução B<sub>6</sub> possui a seguinte composição (g.L<sup>-1</sup>): NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub>: 22,86; KCr(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 12H<sub>2</sub>O: 192; NiSO<sub>4</sub> 6H<sub>2</sub>O: 44,8; Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O: 17,94; TiOSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·8H<sub>2</sub>O: 61,1; CO(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O: 43,98.

## ANEXO B

### Síntese do método 3050-B traduzido (USEPA, 1996).

#### **1º Passo:**

- Pega-se 1g do solo/biomassa coletado.
- Adicione 5ml de  $\text{HNO}_3$ .
- Adicione 5ml de  $\text{H}_2\text{O}$ .
- Aqueça a amostra até  $95^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$  por 10 – 15 minutos, sem deixar ferver.

#### **2º Passo:**

- Após o resfriamento da amostra adicione 5ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado e recobre com vidro de relógio e espere por 30 minutos.
- Se ainda existir uma fumaça marrom que isto significa a oxidação da amostra pelo  $\text{HNO}_3$ .
- Adicione 5ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado tantas vezes forem necessárias até que não gere mais a fumaça marrom, que nos indicará a completa reação com o  $\text{HNO}_3$ .
- Após isso se deve colocar na chapa quente com  $95^\circ\text{C}$  sem ferver por 2 horas sempre com o frasco fechado.

#### **3º Passo:**

- A amostra deve ser resfriada e em sequência adicione 2ml de  $\text{H}_2\text{O}$  e 3ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 30% (0,7  $\text{H}_2\text{O}$  e 0,3  $\text{H}_2\text{O}_2$ ).
- Cubra o frasco com vidro de relógio e retorne o frasco a chapa para o aquecimento dando início a reação do peróxido.
- Tome cuidado com a efervescência do peróxido para que não ocorra perdas devido a este efervescência.
- Para que ocorra a estabilização da amostra adicione  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 30% em alíquotas de 1ml
- Não se deve adicionar mais de 10ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30%.
- Cubra o frasco com o vidro relógio e aqueça à  $95^\circ\text{C}$  por 2 horas sem ferver.

#### **4º Passo:**

- Deve-se adicionar 10ml de HCL e cobrir com o vidro relógio e o aqueça a  $95^\circ\text{C}$  por 15 minutos.
- Filtre o digerido utilizando o filtro nº 41 e coloque o filtrado num frasco volumétrico de 100ml e complete o volume com  $\text{H}_2\text{O}$  e analise.

## ANEXO C

### Síntese do método 3050-A traduzido (USEPA, 1996).

Pelo Método 3050-A podem ser analisados os seguintes metais

Alumínio	Mangnésio
Antimonio	Manganês
Molibdênio	Arsênio
Níquel	Bário
Potássio	Berílio
Cádmio	Selenio
Prata	Cálcio
Sódio	Cromo
Cobalto	Tálio
Vanádio	Cobre
Zinco	Ferro

### PROCEDIMENTO

- Transferir uma alíquota de 100 mL de amostra bem misturada para uma proveta.
- Adicionar 2 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado e 5 mL de HCl concentrado.
- A amostra é coberta com um vidro de relógio com nervuras ou outras coberturas adequada e aquecida num banho de vapor, placa quente ou outra fonte de aquecimento com temperatura de 90 a 95 ° C até que o volume seja reduzido para 15-20 ml.

**CUIDADO:** Não deixe ferver. Antimônio é facilmente perdido por volatilização de meios com ácido clorídrico.

- Retirar o copo e deixa-se arrefecer. Lavar as paredes do copo com água e, quando necessário, o filtro ou centrifugar a amostra para remover silicatos e outro material insolúvel que poderia obstruir o nebulizador.
- Ajustar o volume final para 100 mL com água reagente e analisar.

## ANEXO D

Síntese do método da 1,5 difenilcarbazida adaptado (APHA, 2000).

### DETERMINAÇÃO DE CROMO HEXAVALENTE – METODO COLIMÉTRICO DA DIFENILCARBAZIDA

O cromo (VI) pode ser determinado pelo método da 1,5- difenilcarbazida em amostras de águas naturais, águas minerais, de abastecimento, efluentes domésticos e industriais.

Utiliza-se uma fórmula em pó denominada *Chroma ver 3 chromium reagent*. Este reagente contém um tampão ácido combinado com 1,5-difenilcarbazida conferindo coloração lilás-roxa quando o cromo (VI) está presente.

Medir 100 mL de amostra filtrada ou aliquota diluída a 100 mL. Acidificar a amostra com ácido fosfórico ou ácido sulfúrico. Adicionar  $2\pm 0,5$  mL de solução de difenilcarbazida, misturar e aguardar em torno de 10 min para desenvolvimento da cor lilás-roxa.

Realizar a leitura da absorvância da amostra em espectrofotômetro a 540 nm.

O resultado da concentração de cromo (VI) no efluente deve ser obtido através de uma curva padrão de cromo (VI) previamente confeccionada em  $\text{mg.L}^{-1}$ .

No caso de diluição da amostra, usar o fator de diluição para calcular a concentração de cromo (VI) em  $\text{mg.L}^{-1}$  da amostra original.