



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

---

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA- BACHAREL

FRANCIÉLI OTTONELLI

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIORREMEDIAÇÃO DE  
METAIS PELA MICROALGA *Pseudokirchneriella subcapitata*.**

Dourados  
2013



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

---

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA- BACHAREL

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIORREMEDIAÇÃO DE  
METAIS PELA MICROALGA *Pseudokirchneriella subcapitata***

Autor: Franciéli Ottonelli  
Orientador: Prof. Dr. Emerson Machado de Carvalho  
Co-Orientador: Prof. Dr. Ivan Ramires

“ Trabalho de conclusão de curso apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de BACHAREL EM BIOTECNOLOGIA, no Programa de Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal da Grande Dourados.”

Dourados  
2013

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD**

363.728 O918a	<p>Otonelli, Francieli. Avaliação do potencial de biorremediação de metais pela ação da <i>Pseudokirchmeriella subcapitata</i> / Francieli Otonelli – Dourados-MS : UFGD, 2013. 14 f.</p> <p>Orientadora: Prof. Dr. Emerson Machado de Carvalho. Monografia (Graduação em Biotecnologia) Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Biorremediação. 2. Microalgas. I. Título.</p>
------------------	---

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIORREMEDIAÇÃO DE  
METAIS PELA MICROALGA *Pseudokirchneriella subcapitata***

Trabalho de conclusão de curso aprovado pela Banca  
Examinadora do Curso de Biotecnologia da  
Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD

Dourados, 12 de Abril de 2013.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Emerson Machado de Carvalho – (UFGD) – Orientador

---

Prof. Dr. Ivan Ramires - (UFGD)

---

Profa. Dra. Márcia Regina Russo - (UFGD)

A Pedra

*"O distraído nela tropeçou...  
O bruto a usou como projétil.  
O empreendedor, usando-a, construiu.  
O camponês, cansado da lida, dela fez assento.  
Para meninos, foi brinquedo.  
Drummond a poetizou.  
Já, David matou Golias, e Michelangelo extraiu-lhe a mais bela escultura...  
E em todos esses casos, a diferença não esteve na pedra, mas no Homem!  
Não existe 'pedra' no seu caminho que você não possa aproveitá-la para o seu próprio  
crescimento."*

*Autor: Fenelon Portilho*

*Ao meu Pai*

*Jesus dos Santos Ottonelli que me ensinou  
que quando se quer algo realmente a força de vontade  
e a coragem podem te levar aonde você precisa estar.*

*Ao meu irmão*

*Bruno Dari Ottonelli Neto  
Que muitas vezes foi pensando nele que segui minha  
Caminhada.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que me deu forças para chegar até o fim sem desanimar, que sempre esteve comigo nas horas mais difíceis e nos momentos onde quis muito desistir.

Aos meus familiares que estiveram comigo mesmo que distantemente apoiando meu sonho e contribuindo para que este se tornasse realidade.

À Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul em especial ao CPBio- Centro de pesquisa a biodiversidade, por ter nos concedido o espaço para desenvolver nossa pesquisa, pois sem o apoio este trabalho não seria possível.

À Dra. Odete Rocha do Laboratório de Limnologia do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva (UFSCar) por ter gentilmente cedido à cepa de *P. subcapitata* para os ensaios.

Ao meu orientador Prof. Emerson Machado de Carvalho, pelo seu empenho em tornar o nosso projeto uma realidade e por ter dedicado varias horas do seu tempo em nos ajudar.

Ao meu co-orientador Prof. Ivan Ramires pelo apoio e incentivo nesta caminhada.

Aos meus colegas de faculdade que levarei eternamente em meu coração: Nicholas Vinicius Silva, Danielly Beraldo, Suellen Ramalho, Jéssica Casagrande, Pierre Demenjour, Edinaldo Ferreira, Igor Chiarelli, Elton Felipe, Rodrigo Raghiant Borges, Allan Rodrigues, Bruna Paulino Conti, Luiz Augusto Cauz, Carla Roberta Volobuff, Dágon Ribeiro, Gabriela Finotto Cavalheiro, Lara Endres.

À pessoa que se tornou ao longo desse tempo uma grande amiga Mônica Ansilago, que sempre esteve comigo em todas as horas, sendo elas boas ou ruins.

Ao meu amor e amigo Gustavo Lindner pelo incentivo e por não me deixar desanimar na reta final.

Aos Professores do curso de Biotecnologia por todo conhecimento que foi a mim transmitidos.

À técnica do Laboratório de Microbiologia Fabiana Gomes da Silva, por toda ajuda prestada.

Ao Laboratório de Química Ambiental e Instrumental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste e a todos os estagiários que nos auxiliaram em todas as análises tão prontamente.

À todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>Lista de Figuras.....</b>	<b>vi</b>
<b>Lista de Abreviaturas.....</b>	<b>vii</b>
<b>Lista de Símbolos.....</b>	<b>viii</b>

### **Avaliação do potencial de biorremediação de metais pela microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*.**

Resumo.....	01
Abstract.....	02
Introdução .....	03
Metodologia .....	05
Resultados e discussão.....	07
Conclusão .....	11
Referências bibliográficas.....	12



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Análise das concentrações de Sulfato Ferroso, Cloreto de Alumínio e Sulfato de Zinco nos ensaios biotecnológicos (média  $\pm$  erro padrão).....08
- Figura 2.** Taxa de crescimento diário (média  $\pm$  erro padrão) da microalga *P. subcapitata* nos tratamentos a) controle - sem contaminantes; b) tratamento contaminado com sulfato ferroso; c) tratamento contaminado com cloreto de alumínio; d) tratamento contaminado com sulfato de zinco; e) tratamento contaminado com cloreto de alumínio + sulfato ferroso + sulfato de zinco.....09
- Figura 3.** Análise do consumo de Nitrogênio e Fósforo nos ensaios biotecnológicos (média  $\pm$  erro padrão).....10

## LISTA DE ABREVIATURAS

Al: Alumínio.

CHU<sub>12</sub>: Meio Comercial.

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente.

EAA-chama: espectrometria de absorção atômica modalidade chama.

Fe: Ferro.

Lux: International System of Units (Sistema Internacional de Unidades).

NaOH: hidróxido de sódio.

NPK: nitrogênio, fósforo e potássio.

Pb: Chumbo.

pH: potencial Hidrogenionico.

*P. subcapitata*: *Pseudokirchneriella subcapitata*.

UV-VIS: espectroscopia no ultravioleta visível.

Zn: Zinco.

## LISTA DE SÍMBOLOS

°C : Graus Celsius.

## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIORREMEDIAÇÃO DE METAIS PELA MICROALGA *Pseudokirchneriella subcapitata*.

### RESUMO

As microalgas são organismos unicelulares com capacidade de fotossíntese rápida e bioadsorção. Por apresentarem resultados em tempo hábil faz-se necessário o estudo e emprego das mesmas em ensaios biotecnológicos a fim de conhecer suas capacidades de biorremediação. O objetivo deste trabalho foi testar sua capacidade de bioadsorção de metais em concentrações conhecidas e seu crescimento em meio alternativo contaminado com metais. Para esse experimento delineou-se cinco tratamentos: 1) controle que continha água destilada autoclavada, meio NPK e meio de cultura com *Pseudokirchneriella subcapitata*; 2) (T1) continha água destilada autoclavada contendo cloreto de alumínio; 2) (T2) continha água destilada com sulfato ferroso; 3) (T3) continha água destilada com sulfato de zinco; 4) (T4) continha água destilada com cloreto de alumínio + sulfato ferroso + sulfato de zinco. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas e continham meio de cultura NPK e inóculo com *P. subcapitata*. A microalga apresentou elevada capacidade de assimilação dos metais em todos os tratamentos. Tanto os metais ferro, como alumínio e zinco, e os sais de nitrogênio e fósforo apresentaram valores baixos no meio de cultivo filtrado, indicando eficiente biorremediação destes elementos pela microalga. Já na biomassa da microalga os elementos que apresentaram elevados valores cumulativos foram nitrogênio, seguido por zinco, ferro, fósforo e alumínio. A taxa de crescimento de *P. subcapitata* foi maior quando os metais estavam associados, indicando existir uma relação positiva entre alumínio, ferro e zinco e que, provavelmente, foi responsável por diminuir o efeito tóxico sobre a microalga.

**Palavras-chave:** adsorção, algas, bioadsorção, Chlorophyceae, ensaios biotecnológicos.

## EVALUATION OF THE POTENTIAL FOR METALS BY BIOREMEDIATION MICROALGAE *Pseudokirchneriella subcapitata*.

### ABSTRACT

Microalgae are unicellular organisms capable of photosynthesis and rapid biosorption. By presenting the results in a timely manner makes is necessary to study and work in the same biotechnological tests to ascertain their ability to bioremediation. The aim of this study was to test their ability to biosorption of metals in known concentrations and growth in alternative medium contaminated with metals. For this experiment was outlined five treatments: 1) control containing autoclaved distilled water, using NPK and culture medium with *Pseudokirchneriella subcapitata*; 2) (T1) contained autoclaved distilled water containing aluminum chloride; 2) (T2) contained water distilled ferrous sulfate; 3) (T3) containing distilled water with zinc sulfate; 4) (T4) contained distilled water with aluminum chloride + + ferrous sulfate zinc sulfate. All assays were performed in triplicate and contained culture medium with and innocuous NPK P. *subcapitata*. The microalgae showed high capacity for assimilation of metals in all treatments. Both iron metals such as aluminum and zinc, and salts of nitrogen and phosphorous showed low values in the culture medium filtrate, indicating efficient bioremediation of these elements by microalgae. Already in the microalgae biomass elements that showed high cumulative values was nitrogen, followed by zinc, iron, phosphorus and aluminum. The rate of growth of P. *subcapitata* was higher when the metals were associated, indicating there is a positive relationship between aluminum, iron and zinc and that probably was responsible for decreasing the toxic effect on microalgae.

**Keywords:** adsorption, algae, biosorption, Chlorophyceae, biotech trials.

## INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural de suma importância a todos os seres vivos, por ser um elemento essencial à vida. Quantitativamente, ela pode ser considerada inesgotável, pois a cada ciclo hidrológico ela se renova (PEIXOTO, 2002). Entretanto, não basta que as populações apenas disponham de água, é necessário também que essa água se caracterize por um mínimo de qualidade (MATTOS; SILVA, 2002).

As microalgas são organismos capazes de realizar fotossíntese, de forma mais rápida e eficiente que as plantas terrestres. A espécie *Pseudokirchneriella subcapitata* é uma alga unicelular com um único cloroplasto onde está contida a clorofila que lhe confere a cor verde e sua reprodução é assexuada; esta microalga é capaz de tolerar condições de salinidade (REYNOLDS *et al*, 1975), meios pobres em nutrientes; a baixa quantidade de minerais se encaixam como fator limitante de crescimento, e sua temperatura ótima esta em torno dos 24°C.

Segundo Abalde *et. al.* (1995), existem diferenças estruturais e morfológicas que possibilitam a classificação das microalgas em diferentes divisões, porém são organismos fisiologicamente similares que apresentam um metabolismo análogo ao das plantas. Também são responsáveis pela maior parte da produção de oxigênio molecular disponível no planeta a partir da fotossíntese (CHISTI, 2004). Segundo Lourenço (2006), os principais elementos limitantes ao crescimento são carbono, nitrogênio, fósforo e ferro. A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes na composição bioquímica das microalgas (RICHMOND, 2004). A agitação que promove a mistura da suspensão algal também é um fator de extrema importância, pois possibilita o acesso das células à luz, auxilia nas trocas de gases, diminui o efeito da estratificação térmica e propicia uma melhor distribuição dos nutrientes (SOARES, 2010). Todos estes fatores, juntamente com a turbulência da água, influenciam na produtividade da biomassa algal (SUH; LEE, 2003). Porém, de acordo com Soares (2010), um fluxo turbulento muito alto produzido pelo bombeamento pode causar um estresse hidrodinâmico, que resulta em dano celular.

Além dos fatores mencionados, os meios de cultivos também são importantes para o desenvolvimento das microalgas. O meio sintético preparado com o fertilizante químico à base de NPK (20:05:20) tem sido utilizado por conter concentrações altas de seus respectivos nutrientes, ser um meio economicamente viável e de fácil manutenção (SIPAUBA-TAVARES; ROCHA, 1993 apud SIPAUBA-TAVARES; IBARRA; FIORESI, 2009). Além

disso, o fertilizante químico NPK pode ser utilizado para enriquecer águas residuais na produção de microalgas, inclusive com traços de metais pesados.

Os metais, no entanto, são considerados toxicantes e estão presentes na maioria das águas residuais, pois são advindos de atividades industriais e agrícolas. Estes não são biodegradáveis, com proporções acumulativas em cadeias tróficas e, conseqüentemente, causando prejuízos para os seres aquáticos e para aqueles que se abastecem dessa água. Nesse aspecto, a microalga *P. subcapitata* tem relevante importância em ensaios biológicos para testar sua tolerância e produção sob condições de contaminação por estes metais (LIMA, 2010).

A utilização das microalgas como alternativa para a adsorção e biossorção de metais pesados apresenta uma proposta interessante já que muitas vezes estes metais são encontrados em baixas concentrações e, no entanto, não sofrem ação das tecnologias tradicionais de remoção. A remoção do metal pode ocorrer via complexação, coordenação, quelação, troca iônica, adsorção e/ou precipitação inorgânica (VOLESKY, 1990), sendo denominada no conjunto como biorremediação. A biorremediação pode ser considerada como uma nova tecnologia para tratar locais contaminados mediante o uso de agentes biológicos capazes de modificar ou decompor poluentes alvos. Estratégias de biorremediação incluem: a utilização de microrganismos autóctones, ou seja, do próprio local, sem qualquer interferência de tecnologias ativas de remediação (biorremediação intrínseca ou natural); a adição de agentes estimulantes como nutrientes, oxigênio e biossurfactantes (bioestimulação); e a inoculação de consórcios microbianos enriquecidos (bioaumento) (BENTO *et al.*, 2003).

O principal objetivo deste trabalho foi testar a tolerância e a capacidade de biorremediação de metais, como o Ferro, Zinco e Alumínio, pela ação da microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* cultivada em meio alternativo NPK.

## MATERIAL E MÉTODOS

O inoculo inicial da microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* foi obtido no Laboratório de Fisiologia de Algas, da Universidade Federal de São Carlos, isolada da Represa do Broa (São Carlos, SP, Brasil). A microalga foi posteriormente cultivada em meio padrão CHU<sub>12</sub> no laboratório do Centro de Pesquisa em Biodiversidade (CPBio) localizado na Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS unidade de Dourados). O sistema de cultivo é estático não axênico, com aeração constante e temperatura ambiente ( $22 \pm 2,0$  °C). Os ensaios foram mantidos em incubadora BOD com controle de fotoperíodo de 2.500 LUX provido por lâmpadas fluorescentes brancas (12 h claro/ 12 h escuro).

Como meio de cultivo das microalgas nos ensaios optou-se por utilizar uma solução com N:P:K (20-5-20 g/L), por se tratar de um meio alternativo mais barato e tão eficiente quanto o CHU<sub>12</sub> (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 1993; HARDY; CASTRO, 2000). A solução foi preparado com a adição de 1,0 ml de adubo químico (N:P:K) adicionado a um litro de água destilada e autoclavada a 120°C durante 20 minutos.

Os ensaios foram elaborados da seguinte forma: 1) o tratamento controle continha 400 mL de água destilada autoclavada e 50 mL de meio NPK e 50 mL de meio de cultura com *P. subcapitata*; 2) o primeiro teste (T1) continha 400 mL de água destilada autoclavada contendo 0,2 mg/L de cloreto de alumínio, 50 mL de meio NPK e 50 mL de meio de cultura com *P. subcapitata*; 3) o segundo teste (T2) continha 50 mL de meio de cultura com *P. subcapitata*, e 400 mL de água destilada com 0,32 mg/L de sulfato ferroso e 50 mL de NPK; 4) o terceiro tratamento (T3) continha 50 mL de meio de cultura com *P. subcapitata*, 400 mL de água destilada com 0,6 mg/L de sulfato de zinco e 50 mL de NPK; 5) o quarto tratamento (T4) continha 50 mL de meio de cultura contendo *P. subcapitata*, 400 mL de água destilada com 0,2 mg/L de cloreto de alumínio, 0,32 mg/L de Sulfato ferroso e 0,6 mg/L de sulfato de zinco e 50 mL de NPK. O valor utilizado de cada contaminante foi estabelecido tendo como base o dobro do limite permitido pela Resolução 357/2005 do CONAMA (BRASIL, 2005).

Para realizar a análise de metais foram retiradas amostras de aproximadamente 100 mL de cada erlemmeyer no primeiro dia de ensaio, antes mesmo da inserção da *P. subcapitata*. No último dia do ensaio as amostras foram divididas em duas frações iguais, sendo que uma das frações foi filtrada e outra não filtrada.

As triplicatas de cada ensaio foram congeladas e armazenadas para serem conduzidas para análise.



As análises de metais (zinco, alumínio e ferro) foram determinadas por técnicas de espectrometria de absorção atômica na modalidade chama, EAA-chama, segundo Welz e Sperling (1999). As análises de fósforo total foram lidas por espectroscopia no ultravioleta visível, UV-VIS, segundo Soares *et al.*, (2009). Para as análises de nitrogênio total foi utilizada a técnica de microdestilação Kjeldhal conforme Mantovani *et al.* (2005), e em seguida tituladas por NaOH<sup>-</sup> (hidróxido de sódio), e o valor consumido é convertido em mg/L de nitrogênio mineral segundo Tedesco *et al.* (1995).

Como metodologia para as análises foi utilizado o manual de análises químicas de solo do Instituto Agrônomo do Paraná (PAVAN *et al.*, 1992). As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Química Ambiental e Instrumental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foram empregados os metais alumínio (cloreto de alumínio), ferro (sulfato ferroso) e zinco (sulfato de zinco) para contaminação do meio de cultivo utilizado para produção da microalga *P. subcapitata* e, assim, avaliar o seu potencial de assimilação (adsorção ou bioadsorção).

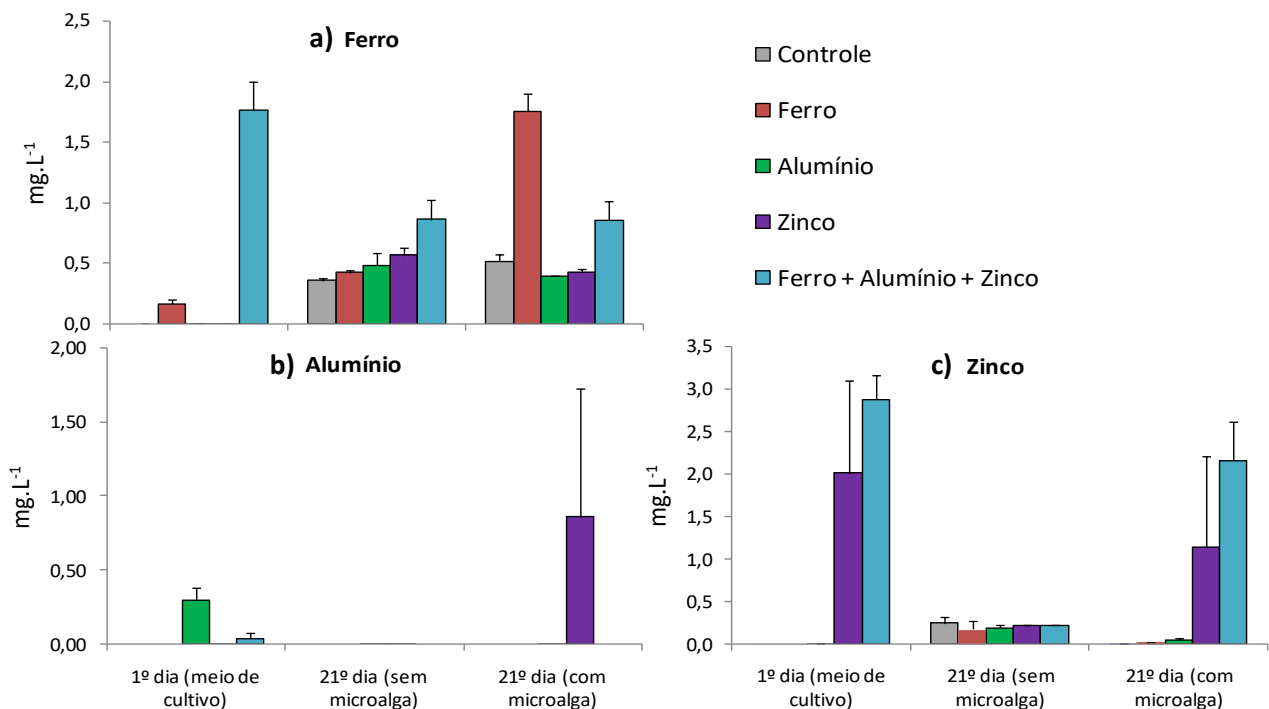
Nas análises de ferro (Figura 1a) foi observado que o tratamento contendo todos os metais apresentou valores de ferro relativamente elevados comparando com os demais tratamentos no primeiro dia de ensaio. A fração não filtrada do último dia de ensaio (21º dia) do tratamento contendo ferro apresentou um valor relativamente alto do metal em relação aos outros tratamentos. Assim, foi possível inferir que a microalga assimilou eficientemente por adsorção ou bioadsorção o referido metal. No entanto, a presença de traços de ferro no controle e nos tratamentos contaminados com alumínio e zinco nas duas frações filtradas e não filtradas, pode ser residual, uma vez que o meio de origem CHU<sub>12</sub> apresenta valores significativos de sulfato ferroso na sua composição (4,89 g de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O/L). Assim, é possível inferir que a microalga tenha bioadsorvido o ferro, que conhecido por ser um elemento essencial no metabolismo dos organismos. Ele participa do processo fisiológico, como a cadeia respiratória e, assim, integra os citocromos (MOZETTO; ZAGATTO, 2008).

Na análise de Alumínio (Figura 1b), foram observados valores mensuráveis no primeiro dia de ensaio somente nos tratamentos contaminado com o próprio metal. Já no último dia de análise foi observada uma elevada concentração de alumínio somente no tratamento contaminado com sulfato de zinco, porém com um elevado desvio da média. Este resultado pode indicar uma relação de sinergia entre o zinco e o alumínio e que não foi comum entre todas as amostras. De acordo com Mozetto e Zagatto (2008) o efeito combinado de dois contaminantes é muito maior do que a soma dos efeitos dos contaminantes individuais aplicados sozinhos.

Semelhante aos resultados verificados na análise de alumínio, na análise de zinco (Figura 1c) também foi observada uma elevada concentração do metal na presença do alumínio, ou seja, no tratamento contaminado com os três metais. No primeiro dia de ensaio foi observado este efeito de sinergia entre zinco e alumínio mesmo na ausência da microalga. No último dia de ensaio também foi possível perceber que o sulfato de zinco foi eficientemente assimilado no tratamento com os três metais. No entanto, no tratamento contaminado somente com zinco os valores apresentaram um elevado desvio de sua média, indicando que este metal pode ser muito instável e não atuar homogeneamente nas amostras.

Por outro lado, a aparição de zinco no controle pode ser proveniente do meio de cultivo CHU<sub>12</sub> que apresenta valores consideráveis de zinco em sua formulação. Segundo (BRIERLEY, 1990) as algas são muito eficazes na adsorção de íons metálicos podendo dar destaque ao zinco.

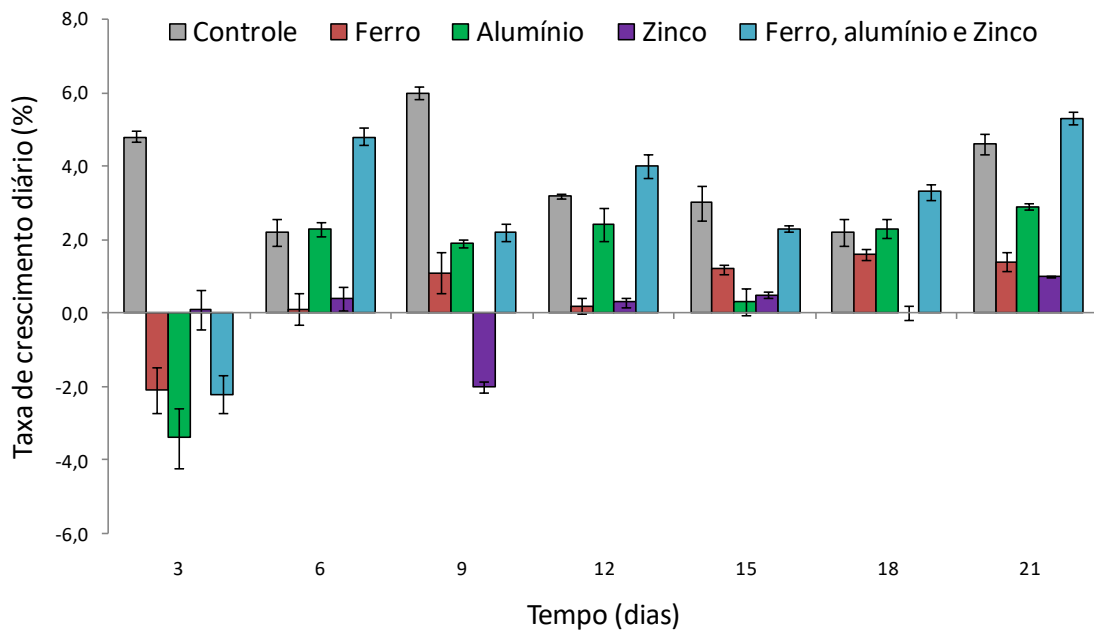
Figura 1. Análise das concentrações de Sulfato Ferroso, Cloreto de Alumínio e Sulfato de Zinco nos ensaios biotecnológicos (média  $\pm$  erro padrão).



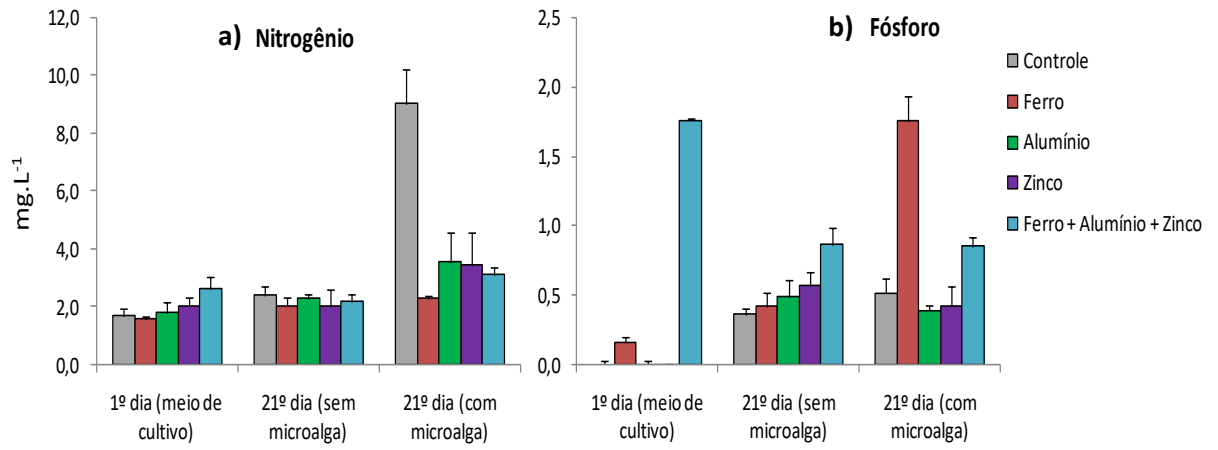
Quando analisada a taxa de crescimento diário de *P. subcapitata* (Figura 2) observa-se que o tratamento contaminado com sulfato de zinco apresentou menor número de células em 21 dias de ensaio. Além disso, no tratamento foi observado um baixo crescimento inicial, seguido de elevada mortalidade no 9<sup>o</sup> dia. Alguns estudos indicam que a biomassa de algas mortas pode ser mais efetiva na retenção e acúmulo de elementos metálicos que células e tecidos vivos, indicando mudanças na natureza da superfície celular em função da ausência de transporte ativo (COSSICH, 2000). Isto indica que os valores elevados de zinco e alumínio encontrados nas amostras contaminadas com os mesmos metais podem ser decorrentes da adsorção pela biomassa morta. Segundo Esteves (1988), todos os elementos considerados traços, mesmo os que possuem função biológica, quando em concentrações mais elevadas,

podem causar toxicidade aos organismos. Por outro lado, o tratamento contaminado simultaneamente com os três metais apresentou a melhor produção de células algais.

Figura 2. Taxa de crescimento diário (média  $\pm$  erro padrão) da microalga *P. subcapitata* nos tratamentos controle - sem contaminantes; tratamento contaminado com sulfato ferroso; tratamento contaminado com cloreto de alumínio; tratamento contaminado com sulfato de zinco; tratamento contaminado com cloreto de alumínio + sulfato ferroso + sulfato de zinco.



Na análise de nitrogênio (Figura 3a) foi observado valores semelhantes entre os tratamentos, no primeiro e último dia, exceto para o controle no 21º dia com microalga. Com isso, é possível observar que a microalga assimilou grande quantidade de nitrogênio na ausência dos metais contaminantes. Já a concentração de fósforo (Figura 3b) foi relativamente maior no tratamento contaminado com os três metais do primeiro dia de ensaio e no tratamento somente com ferro no último dia da amostra sem filtrar. Esta elevada concentração de fósforo no último dia de ensaio indica que a microalga apresentou elevado potencial de bioacumulação deste sal. Apesar dos valores elevados de fósforo, eles apresentaram uma concentração 11 vezes menor que os observados para o nitrogênio. A constituição da biomassa algal é normalmente derivada da chamada relação de Redfield ( $C_{106}H_{118}O_{45}N_{16}P$ ), o que vale dizer que as algas, em média, demandam 16 vezes mais nitrogênio do que fósforo, (SPERLING, 2001).

Figura 3. Análise do consumo de Nitrogênio e Fósforo nos ensaios biotecnológicos (média  $\pm$  erro padrão).

## CONCLUSÃO

Em síntese, a microalga apresentou elevada capacidade de assimilação dos metais em todos os tratamentos. Tanto os metais ferro, como alumínio e zinco, e os sais de nitrogênio e fósforo apresentaram valores baixos no meio de cultivo filtrado, indicando eficiente biorremediação destes elementos pela microalga. Já na biomassa da microalga os elementos que apresentaram elevados valores cumulativos foi nitrogênio, seguido por zinco, ferro, fósforo e alumínio. A taxa de crescimento de *P. subcapitata* foi maior quando os metais estavam associados, indicando existir uma relação positivo entre alumínio, ferro e zinco e que, provavelmente, foi responsável por diminuir o efeito tóxico sobre a microalga. Os resultados obtidos mostram que em escala de bancada a microalga foi capaz tanto de se desenvolver na presença dos metais, como também apresentou elevado potencial de assimilação, seja por adsorção ou biossorção destes metais. Apesar dos resultados, faz se necessários estudos mais detalhados para aperfeiçoamento da técnica e melhoria na metodologia empregada, requerendo ensaios mais curtos e o emprego de outros metais contaminantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALDE, J; CID, A.; FIDALGO, P.; TORRES, E.; HERRERO, C. **Microalgas: cultivo y aplicaciones**. 1. ed. Corunha: Universidade da Coruña. 1995. 210 p.
- BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O.; OKEKE, B. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil, **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, p. 65-68, 01 nov. 2003.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 375, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.
- BRIERLEY, J.A. **Production and application of a Bacillus- based product for use in metals biosorption**. 1 ed. Boca Raton: Chemical Rubber Company, 1990. 305-311 p.
- CHISTI, Y. **Microalgae: our marine forests - Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology**. 1. ed. Oxford: Blackwell Science, 2004, 566 p.
- COSSICH, E.S. **Biossorção de cromo(III) pela biomassa de alga marinha *Sargassum* sp.** 2000. Tese (Doutorado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2000.
- ESTEVES, F.A. **Fundamentos de limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1988. 574p.
- HARDY, E. R.; CASTRO, J. G. D. Qualidade nutricional de três espécies de clorófitas cultivadas em laboratório. **Acta Amazonica**, v. 30, n. 1, p. 39-47, 2000.
- LIMA, P. C. G. de. **Estudos dos mecanismos de detoxificação e tolerância aos metais crômio e cobre em *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Pistia stratiotes* e o uso das macrófitas *Tpha* sp e *Phragmites* sp na remoção de nutrientes em *wetlands* construídos**. 2010. 283f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental)- Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas – princípios e aplicações**. 1. ed. São Carlos: Rima, 2006. 606 p.

MANTOVANI, J. R.; CRUZ, M. C. P.; FERREIRA, M. E. BARBOSA, J. C.. Comparação de procedimentos de quantificação de nitrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.40, n.01, p. 53-59, jan. 2005.

MATTOS, M. L. T.; SILVA, M. D. da. **Controle da Qualidade Microbiológica das Águas de Consumo na Microbacia Hidrográfica Arroio Passo do Pilão**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado Pelotas, 2002. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado técnico, 61).

MOZETO, A.A.; ZAGATTO, P.A. Introdução de Agentes Químicos no Ambiente. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (Eds.). **Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações**. 1 ed. São Paulo: Rima, 2008. 15-38 p.

PAVAN, M.A.; BLOCH, M.F.; ZEMPULSKI, H.C.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D.C. **Manual de análises químicas de solo e controle de qualidade**. 2. ed. Londrina: IAPAR. 1992. 40 p.

PEIXOTO, P. P. P. **BASES para aproveitamento e gerenciamento de recursos hídricos na região de Dourados – MS**. 2002. 111f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

REYNOLDS,J.; MIDDLEBOOKS,E. ; PORCELLA, D. &GRENNEY, W. Effects of temperature on growth constants of *Selenastrum capricornutum*. **Water Pollution Control Federation**, Washington, p. 2420- 2436, 01 jan. 1975.

RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. 2. ed. Oxford: Blackwell Science, 2004. 588 p.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; IBARRA, L. C. C.; FIORESI, T. B. Cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (reisch) korsikov (chlorophyta) em laboratório utilizando meio chu12 e de macrófita com npk. **Boletim do Instituto de Pesca**. São Paulo, v. 35. n. 1. p. 111-118, 2009.



SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. Cultivo em larga escala de organismos planctônicos para a alimentação de larvas e alevinos de peixes: I - Algas clorofíceas. **Biotemas**, Florianópolis, v. 6, n.1, p. 93-106, 1993.

SOARES, C.L. R. F. S.; ACCIOLY, A. M. A.; MARQUES, T. C. C. L. S. M. et al. Acúmulo e distribuição de metais pesados nas raízes, caule e folhas de mudas de árvores em solo contaminado por rejeitos de indústria de zinco. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v.13, n.3, p. 302-315, 2009.

SOARES, D. **Avaliação do crescimento celular e da produtividade de lipídeos de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo**. 2010. 107 f. Tese (Mestrado em Ciências: Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

SPERLING, E. V. Uso de relações limnológicas para avaliação da qualidade da água em mananciais de abastecimento. In: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental; AIDIS. Saneamento ambiental: desafio para o século 21. 4. 2001, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: Ed. ABES, 2001. P. 1-3.

SUH, I. S.; LEE, C.G. Photobioreactor Engineering: Design and Performance. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, Seul, p. 313-321, 2003.

TEDESCO, M. J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia 1995. (Boletim Técnico de Solos, 5).

VOLESKY B. **Removal and Recovery of Heavy Metals by Biosorption**. 3. ed. Montreal: Chemical Rubber Company, 1990. 408 p.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3 ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1999. 965 p.