



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro de Tecnologia e Ciências

Instituto de Química

Renata Nascimento Cardoso da Rocha

**Interações do lantânio e cério com microalgas dos gêneros**

*Monoraphidium e Scenedesmus*

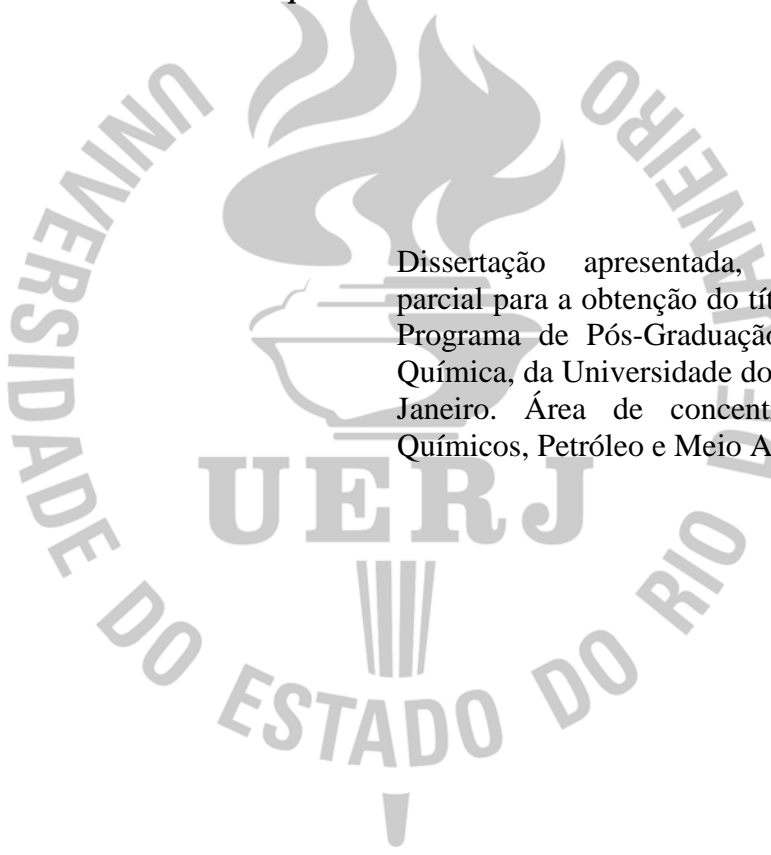
Rio de Janeiro

2014

Renata Nascimento Cardoso da Rocha

**Interações do lantânio e cério com microalgas dos gêneros**

***Monoraphidium e Scenedesmus***



Dissertação apresentada, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos Químicos, Petróleo e Meio Ambiente.

Orientadores: Prof. Dr. Antonio Carlos Augusto da Costa

Prof. Dr. Aderval Severino Luna

Rio de Janeiro

2014

## CATALOGAÇÃO NA FONTE

UERJ/REDE SIRIUS/CTC/Q

R672i Rocha, Renata Nascimento Cardoso da.  
Interações do lantânio e cério com microalgas dos gêneros  
*Monoraphidium* e *Scenedesmus*. / Renata Nascimento Cardoso da  
Rocha. - 2014.  
143 f.

Orientador: Antonio Carlos Augusto da Costa

Aderval Severino Luna.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de  
Janeiro, Instituto de Química.

1. Microalgas - Teses. 2. Biossorção – Teses. 3. Lantânio - Teses  
I. Costa, Antonio Carlos Augusto da II. Luna, Aderval Severino III.  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Química. IV.  
Título.

CDU 582.26

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

---

Assinatura

---

Data

Renata Nascimento Cardoso da Rocha

**Interações do lantânio e cério com microalgas dos gêneros**

***Monoraphidium e Scenedesmus***

Dissertação apresentada, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos Químicos, Petróleo e Meio Ambiente.

Aprovada em 28 de maio de 2014.

Orientador: Prof. Dr. Aderval Severino Luna

Instituto de Química – UERJ

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Antonio Carlos Augusto da Costa (Orientador)

Instituto de Química – UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina de Melo Ferreira

Instituto de Radioproteção e Dosimetria - CNEN

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lilian Ferreira de Senna

Instituto de Química – UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Monteiro Machado Gonçalves

Instituto de Química – UERJ

Rio de Janeiro

2014

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que me abençoa a cada dia e me concede a força e a sabedoria necessárias para a realização das minhas tarefas. É Dele toda a vitória alcançada em minha vida.

Ao Prof. Antonio Carlos Augusto da Costa, minha sincera gratidão pela dedicação na orientação, por todo o incentivo e compreensão, durante a realização do trabalho.

Ao Prof. Aderval Severino Luna pelas oportunas críticas e sugestões e pelos ensinamentos transmitidos.

À professora Lillian do CETEM, por ter realizado parte das determinações analíticas.

À técnica do laboratório, Marcia Carreira, que sempre pronta para ajudar, tornava a jornada mais amena.

Aos colegas de laboratório, Vicente e Ana Carolina, dispostos a ajudar sempre.

À minha amiga Fernanda Corrêa, meu sincero agradecimento pela amizade, companheirismo e apoio.

À Denise Piedade que ajudou nas análises microscópicas das microalgas, com muito carinho, dedicação e disposição.

Ao meu marido que durante todo o tempo me incentivou, apoiou e ajudou para que eu conseguisse realizar este trabalho.

Aos meus três filhos, Pedro, Isabella e João Filipi, razões do meu viver, por esperarem com tanta paciência e compreensão pela minha presença em diversos momentos.

À minha mãe por estar sempre ao meu lado, torcendo e rezando muito por mim.

Ao meu pai (em memória) que tanto me amou, transmitindo princípios e valores fundamentais para a minha formação.

Ao secretário do PPG-EQ, Marco Antonio, pelas palavras e atitudes de apoio, demonstrando amizade e solicitude em diversos momentos ao longo destes dois anos.

## RESUMO

ROCHA, Renata Nascimento Cardoso da. *Interações do lantânio e cério com microalgas dos gêneros Monoraphidium e Scenedesmus*. 2014. 143 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

Os elementos de terras raras, representados em sua maioria pelos lantanídeos, ocorrem principalmente como constituintes-traço da maioria dos minerais de rochas comuns (monazita, apatita) e também estão presentes em alguns minérios. Tais elementos foram largamente usados por décadas como fertilizantes na China. Na área das inovações tecnológicas, a demanda por esses metais vem crescendo por conta das suas aplicações em diversos campos. Conseqüentemente, grandes quantidades desses elementos são acumulados em ambientes aquáticos atingindo o fitoplâncton. Assim, as microalgas que são organismos ecologicamente importantes na cadeia alimentar têm sido frequentemente usadas em estudos ambientais para avaliar a toxicidade relativa de várias descargas químicas e são largamente estudadas na detecção dos primeiros impactos no ecossistema. Somado a isso, são biomassas que possuem boa capacidade de bioabsorção de metais devido à presença de ligantes na sua estrutura que promovem a captação deles quando em solução. Dessa forma, as interações entre as microalgas verdes *Monoraphidium* e *Scenedesmus* e os íons  $\text{La}^{3+}$  e  $\text{Ce}^{3+}$  foram investigadas neste trabalho. Para isso, foram avaliados o efeito tóxico e a bioacumulação do  $\text{La}^{3+}$  pelas duas microalgas verdes. Adicionalmente, estudos em batelada da bioabsorção do  $\text{La}^{3+}$  e  $\text{Ce}^{3+}$  em soluções contendo os elementos isoladamente ou em combinação foram realizados. No estudo de toxicidade e de bioacumulação o meio de cultivo utilizado foi o ASM-1, com e sem presença de  $\text{La}^{3+}$  (10  $\text{mg.L}^{-1}$  a 100  $\text{mg.L}^{-1}$ ), onde o efeito tóxico do metal foi monitorado por análises micro e macroscópica das células e também pela quantificação do crescimento celular baseada em medidas da massa seca. A bioacumulação do metal foi avaliada da mesma forma para ambas as microalgas. Os resultados obtidos mostraram que o efeito tóxico do metal foi presente em concentrações iônicas de 50 e 100  $\text{mg.L}^{-1}$  e que houve uma bioconcentração do  $\text{La}^{3+}$  em ambas espécies de microalgas, principalmente quando a concentração inicial do  $\text{La}^{3+}$  foi de 10 e 25  $\text{mg.L}^{-1}$ , mostrando que houve uma relação direta entre a bioconcentração e a toxicidade do  $\text{La}^{3+}$ . O gênero *Monoraphidium* bioconcentrou mais metal que o gênero *Scenedesmus*. Os resultados da bioabsorção dos metais em solução monoelementar mostraram que as microalgas apresentaram grande capacidade de captação do  $\text{La}^{3+}$  (20,7  $\text{mmol.g}^{-1}$  para *Monoraphidium* sp. e 17,8  $\text{mmol.g}^{-1}$  para *Scenedesmus* sp.) e do  $\text{Ce}^{3+}$  (25,7  $\text{mmol.g}^{-1}$  para *Monoraphidium* sp. e 11,5  $\text{mmol.g}^{-1}$  para *Scenedesmus* sp.). Os resultados obtidos revelaram que os dados melhor se ajustaram ao modelo de Freundlich, na maioria dos casos. Em sistema binário, notou-se que houve uma menor captação de cada um individualmente, evidenciando uma competição entre eles pelos mesmos sítios ligantes e que ambas apresentaram maior afinidade pelo  $\text{Ce}^{3+}$ .

Palavras-chave: Microalgas. Bioabsorção. Toxicidade. Bioacumulação. Lantânio. Cério.

## ABSTRACT

ROCHA, Renata Nascimento Cardoso da. *Interactions of lanthanum and cerium with microalgal cells from the generas Monoraphidium e Scenedesmus*. 2014. 143 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

Rare-earth elements, mostly represented by the lanthanides, usually occur as trace constituents in minerals of some common rocks (monazite, apatite) and also in some ores. Such elements were widely used for decades as fertilizers in China. Regarding technological innovations, the demand for these metals is constantly growing due to their applications in several fields. Consequently, high amounts of these elements are accumulated in the aquatic environment reaching phytoplanktonic species. This way, microalgae, that are the most ecologically relevant species in the food chain, are being frequently used in environmental studies to evaluate relative toxicity from various chemical discharges, also due to their wide use in the detection of the first environmental impacts in ecosystems. Beyond this fact, they constitute a type of biomass with a good metals biosorption capacity due to the presence of ligands in their biological structures, that promote the uptake of metals when present in solution. Thus, the interaction of the Green microalgae *Monoraphidium* and *Scenedesmus* with  $\text{La}^{3+}$  and  $\text{Ce}^{3+}$  were investigated in the present work. To reach this goal, the toxic effect and bioaccumulation of  $\text{La}^{3+}$  by both microalgae were studied. Additionally, batch biosorption studies of  $\text{La}^{3+}$  and  $\text{Ce}^{3+}$  were done, in monoelement and combined solutions were performed. In the study of toxicity and bioaccumulation, the culture medium used was ASM-1 in the presence and absence of  $\text{La}^{3+}$  (10  $\text{mg.L}^{-1}$  to 100  $\text{mg.L}^{-1}$ ), where the toxic effect of the metal was monitored through micro and macroscopic observation of the cultures and also through quantification of the biomass by direct dry mass quantification. In the bioaccumulation tests the same procedure was adopted. The results obtained showed that the toxic effect of the metal was present in 50 and 100  $\text{mg.L}^{-1}$  solutions and that the bioconcentration of  $\text{La}^{3+}$  by both species, mainly for  $\text{La}^{3+}$  concentrations from 10 to 25  $\text{mg.L}^{-1}$ , indicating that there was a direct relation between bioconcentration and  $\text{La}^{3+}$ . Cells from the genus *Monoraphidium* concentrated a higher amount than *Scenedesmus*. Biosorption results from monoelement solutions showed the high ability of both microalgae to accumulate  $\text{La}^{3+}$  (20,7  $\text{mmol.g}^{-1}$  for *Monoraphidium* sp. and 17,8  $\text{mmol.g}^{-1}$  for *Scenedesmus* sp.); and,  $\text{Ce}^{3+}$  (25,7  $\text{mmol.g}^{-1}$  for *Monoraphidium* sp. and 11,5  $\text{mmol.g}^{-1}$  for *Scenedesmus* sp.). The results obtained revealed that experimental data were fitted to Freundlich adsorption model, in most cases. In binary solutions, a smaller uptake was observed, considering individual uptake capacities, thus indicating a competition between the elements for the same ligand sites, and also it was observed a higher affinity for  $\text{Ce}^{3+}$ .

Keywords: Microalgae. Biosorption. Toxicity. Bioaccumulation. Lanthanum. Cerium.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Algumas aplicações dos elementos de terras raras.....	19
Figura 2 -	Árvore filogenética de <i>Eukarya</i> .....	21
Figura 3 -	Diversidade de formas e tamanhos das algas do grupo das clorófitas.....	22
Figura 4 -	Micrografia em campo claro de representantes de microalgas verdes.....	23
Figura 5 -	Cadeia de celulose formada pela união de unidades $\beta$ -D-glicopiranosose....	24
Figura 6 -	Esquema da estrutura da parede celular de alga.....	24
Figura 7 -	Fotomicrografia da <i>Scenedesmus</i> sp.....	25
Figura 8 -	Fotomicrografia da <i>Monoraphidium</i> sp.....	26
Figura 9 -	Faixas de parâmetros que afetam a bio sorção dos ETR's.....	27
Figura 10 -	Diagrama de especiação em função do pH.....	28
Figura 11 -	Vários mecanismos de bio sorção dos elementos de terras raras.....	30
Tabela 1 -	Os ligantes presentes em sistemas biológicos e as três classes de metais..	31
Tabela 2 -	Grupos funcionais representativos e classes de compostos orgânicos presentes nas biomassas.....	31
Figura 12 -	Interação de íons de metais pesados com bactérias.....	34
Quadro 1 -	Classificação das microalgas.....	39
Figura 13 -	Fotomicrografia da <i>Monoraphidium</i> sp. (aumento de 400x).....	40
Figura 14 -	Fotomicrografia de <i>Scenedesmus</i> sp. (aumento de 400x).....	40
Figura 15 -	Frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo os cultivos, de 22 dias, das microalgas dos gêneros <i>Monoraphidium</i> sp. e <i>Scenedesmus</i> sp.....	41
Figura 16 -	Câmara de Germinação com os cultivos das microalgas.....	42
Tabela 3 -	Meio ASM-1 usado na manutenção das microalgas verdes.....	42
Tabela 4 -	Preparo dos meios de cultura ASM-1 contaminados com $La^{3+}$ .....	44
Tabela 5 -	Preparo das soluções de meio ASM-1 contaminado com $La^{3+}$ para o ensaio de bioacumulação.....	45
Figura 17 -	Unidade de Filtração.....	47



Tabela 6 -	Quantidades de sais utilizados no preparo das soluções dos íons metálicos.....	48
Figura 18 -	Chapa rotatória contendo as garrafas utilizadas nos experimentos cinéticos.....	49
Tabela 7 -	Tempos de cultivo das microalgas verdes <i>Monoraphidium</i> sp. e <i>Scenedesmus</i> sp. utilizadas nos experimentos cinéticos de bio sorção.....	49
Tabela 8 -	Quantidades dos sais cloreto de lantânio heptahidratado e de nitrato de cério hexahidratado pesadas.....	50
Tabela 9 -	Tempos de cultivo da <i>Monoraphidium</i> sp. e <i>Scenedesmus</i> sp. utilizadas nos experimentos de equilíbrio.....	51
Figura 19 -	Curva de crescimento da microalga verde <i>Monoraphidium</i> sp.....	55
Figura 20 -	Fotomicrografia da microalga <i>Monoraphidium</i> .....	56
Figura 21 -	Fotomicrografia da microalga <i>Monoraphidium</i> sp utilizada neste trabalho. (Microscópio óptico, aumento de 400x).....	56
Figura 22-	Curva de Crescimento da <i>Scenedesmus</i> sp.....	58
Figura 23 -	Fotomicrografia da microalga <i>Scenedesmus</i> sp.....	58
Figura 24 -	Fotomicrografia das células da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. utilizada neste trabalho.....	59
Figura 25 -	Análise macroscópica do crescimento celular da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. após 26 dias de cultivo em meio ASM-1contaminado com 10 e 100 mg.L <sup>-1</sup> de La <sup>3+</sup> .....	60
Figura 26 -	Análise macroscópica do crescimento celular da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. após 19 dias de cultivo em meio contaminado com 25 e 50 mg.L <sup>-1</sup> de La <sup>3+</sup> .....	61
Figura 27 -	Cultivo de 22 dias da <i>Scenedesmus</i> sp. na ausência de lantânio.....	61
Figura 28 -	Fotomicrografias de <i>Scenedesmus</i> sp. quando na presença de lantânio nas concentrações de 10, 25, 50 e 100 mg.L <sup>-1</sup> . (microscópio ótico, aumento de 400x).....	62
Figura 29 -	Curvas de Crescimento da <i>Scenedesmus</i> sp. sob cultivo em meio contaminado por La <sup>3+</sup> em diferentes concentrações.....	63

Figura 30 -	Análise macroscópica do crescimento celular da microalga <i>Monoraphidium</i> sp. após 26 dias de cultivo em meio contaminado com 10 e 100 mg.L <sup>-1</sup> de La <sup>3+</sup> , respectivamente.....	64
Figura 31 -	Análise macroscópica do crescimento celular da microalga <i>Monoraphidium</i> sp. após 19 dias de cultivo em meio contaminado com 25 e 50 mg.L <sup>-1</sup> de La <sup>3+</sup> .....	64
Figura 32 -	Cultivo de 22 dias da <i>Monoraphidium</i> sp. na ausência de lantânio.....	65
Figura 33 -	Fotomicrografias de <i>Monoraphidium</i> sp. sob cultivo em meios contaminados com diferentes concentrações de La <sup>3+</sup> (microscópio óptico, aumento de 400x).....	65
Figura 34 -	Curvas de Crescimento da <i>Monoraphidium</i> sp. sob cultivo em meio contaminado por solução de La <sup>3+</sup> com diferentes concentrações.....	66
Figura 35 -	Perfil de captação do lantânio pelas microalgas cultivadas por 7 dias na presença de lantânio em diferentes concentrações.....	68
Figura 36 -	Análise comparativa dos cultivos de <i>Scenedesmus</i> sp. em meio ASM-1 isento de lantânio e na presença de diferentes concentrações do íon metálico.....	69
Figura 37 -	Análise comparativa dos cultivos de <i>Monoraphidium</i> sp. em meio ASM-1 isento de lantânio e na presença de diferentes concentrações do íon metálico.....	70
Figura 38 -	Fotomicrografia da <i>Scenedesmus</i> sp. após 7 dias em presença do lantânio no meio de cultura, em diferentes concentrações.....	71
Figura 39 -	Fotomicrografias da <i>Monoraphidium</i> sp. após 7 dias em presença de lantânio no meio de cultura em diferentes concentrações.....	72
Figura 40 -	Cinética de biossorção do lantânio pela <i>Scenedesmus</i> sp.....	75
Figura 41 -	Isoterma de Equilíbrio representando a remoção de lantânio pela <i>Scenedesmus</i> sp.....	77
Figura 42 -	Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de lantânio pela <i>Scenedesmus</i> sp., ajustados segundo o Modelo de Langmuir.....	77
Figura 43 -	Resíduos dos dados ajustados ao Modelo de Langmuir para o ensaio de equilíbrio da <i>Scenedesmus</i> sp. na remoção de lantânio.....	78
Figura 44 -	Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de lantânio pela <i>Scenedesmus</i> sp., ajustados segundo o Modelo de Freundlich.....	78

Figura 45 -	Resíduos dos dados ajustados ao Modelo de Freundlich para os dados do ensaio de equilíbrio da <i>Scenedesmus</i> sp. na remoção de lantânio.....	79
Figura 46 -	Cinética de biossorção do lantânio pela <i>Monoraphidium</i> sp.....	80
Figura 47 -	Isoterma de Equilíbrio representando a remoção de lantânio pela <i>Monoraphidium</i> sp.....	81
Figura 48 -	Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de lantânio pela <i>Monoraphidium</i> sp., segundo o Modelo de Langmuir.....	82
Figura 49 -	Resíduos dos dados ajustados segundo o Modelo de Langmuir para o ensaio de equilíbrio da <i>Monoraphidium</i> sp., na remoção de lantânio.....	82
Figura 50 -	Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de lantânio pela <i>Monoraphidium</i> sp., segundo o Modelo de Freundlich.....	83
Figura 51 -	Resíduos dos dados ajustados ao Modelo de Freundlich para o ensaio de equilíbrio da <i>Monoraphidium</i> sp. na remoção de lantânio.....	84
Tabela 10 -	Constantes de Langmuir e de Freundlich na biossorção do lantânio pela <i>Scenedesmus</i> sp. e pela <i>Monoraphidium</i> sp.....	84
Figura 52 -	Cinética de biossorção do cério pela <i>Scenedesmus</i> sp.....	86
Figura 53 -	Isoterma de Equilíbrio representando a remoção do cério pela <i>Scenedesmus</i> sp.....	88
Figura 54 -	Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção do cério pela <i>Scenedesmus</i> sp., segundo o modelo de Langmuir.....	89
Figura 55 -	Resíduos dos dados ajustados ao modelo de Langmuir para o ensaio de equilíbrio da <i>Scenedesmus</i> sp. na remoção de cério.....	90
Figura 56 -	Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção do cério pela <i>Scenedesmus</i> sp., segundo o modelo de Freundlich.....	90
Figura 57 -	Resíduos dos dados ajustados segundo o modelo de Freundlich para o ensaio de equilíbrio da <i>Scenedesmus</i> sp. na remoção de cério.....	91
Figura 58 -	Cinética de biossorção do cério pela <i>Monoraphidium</i> sp.....	92
Figura 59 -	Isoterma de equilíbrio representando a remoção do cério pela <i>Monoraphidium</i> sp.....	93
Figura 60 -	Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de cério pela <i>Monoraphidium</i> sp., segundo o modelo de Langmuir.....	94

Figura 61 -	Resíduos dos dados ajustados ao modelo de Langmuir para o ensaio de equilíbrio da <i>Monoraphidium</i> sp. na remoção do cério.....	95
Figura 62 -	Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção do cério pela <i>Monoraphidium</i> sp., segundo o modelo de Freundlich.....	95
Figura 63 -	Resíduos dos dados ajustados ao modelo de Freundlich para o ensaio de equilíbrio da <i>Monoraphidium</i> sp. na remoção de cério.....	96
Tabela 11 -	Constantes de Langmuir e de Freundlich na bioissorção do cério pela <i>Scenedesmus</i> sp. e pela <i>Monoraphidium</i> sp.....	96
Figura 64 -	Comparação dos ensaios cinéticos de bioissorção da <i>Scenedesmus</i> sp. pelo lantânio quando sozinho e quando em sistema binário.....	98
Figura 65 -	Comparação dos ensaios cinéticos de bioissorção da <i>Scenedesmus</i> pelo cério quando sozinho e quando em sistema binário.....	100
Figura 66 -	Isotermas de equilíbrio da bioissorção da <i>Scenedesmus</i> sp. pelo cério e pelo lantânio quando em sistema binário.....	102
Figura 67 -	Comparação dos ensaios cinéticos de bioissorção da <i>Monoraphidium</i> sp. pelo lantânio quando sozinho e quando em sistema binário.....	104
Figura 68 -	Comparação dos ensaios cinéticos de bioissorção da <i>Monoraphidium</i> pelo cério quando sozinho e quando em sistema binário.....	105
Figura 69 -	Isotermas de equilíbrio da bioissorção da <i>Monoraphidium</i> pelo cério e lantânio quando em sistema binário.....	107
Figura 70 -	Comparação das isotermas de equilíbrio da bioissorção da <i>Scenedesmus</i> pelo cério e pelo lantânio quando presentes em sistemas binários.....	108
Figura 71 -	Comparação das isotermas de equilíbrio da bioissorção da <i>Monoraphidium</i> pelo cério e pelo lantânio quando presentes em sistemas binários.....	109
Figura 72 -	Isotermas de adsorção dos metais cério e lantânio quando sozinhos e quando em sistema binário comparadas com a isoterma da captação total de ambos metais quando em sistema binário utilizando a <i>Scenedesmus</i> como bioissorvente.....	111
Figura 73 -	Isotermas de adsorção dos metais cério e lantânio quando sozinhos e quando em sistema binário comparadas com a isoterma da captação total de ambos metais quando em sistema binário, utilizando a <i>Monoraphidium</i> como bioissorvente.....	112

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>1</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
<b>1.1.</b>	<b>Metais de terras raras</b> .....	18
1.1.1	<u>Elementos de terras raras e o meio ambiente</u> .....	20
<b>1.2</b>	<b>Microalgas verdes</b> .....	21
<b>1.3</b>	<b>Biossorção</b> .....	26
<b>1.4</b>	<b>Toxicidade</b> .....	32
<b>1.5</b>	<b>Bioacumulação</b> .....	34
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	39
<b>2.1</b>	<b>Microalgas</b> .....	39
<b>2.2</b>	<b>Cultivo e manutenção das células</b> .....	41
<b>2.3</b>	<b>Massa seca</b> .....	43
<b>2.4</b>	<b>Metais de terras raras</b> .....	43
<b>2.5</b>	<b>Estudo da toxicidade</b> .....	44
2.5.1	<u>Preparo das soluções</u> .....	44
2.5.2	<u>Cultivos das microalgas nas soluções contaminadas com lantânio</u> .....	44
<b>2.6</b>	<b>Estudo de bioacumulação</b> .....	45
2.6.1	<u>Preparo das soluções</u> .....	45
2.6.2	<u>Inoculação e cultivo das microalgas</u> .....	46
2.6.3	<u>Filtração das culturas</u> .....	46
<b>2.7</b>	<b>Estudos de Biossorção</b> .....	47
2.7.1	<u>Experimentos cinéticos da biossorção</u> .....	47
2.7.2	<u>Experimentos de equilíbrio da biossorção</u> .....	50
<b>2.8</b>	<b>Caracterização analítica dos processos em batelada</b> .....	51

2.8.1	<u>Processo de Biossorção</u> .....	51
2.8.2	<u>Modelos Cinéticos</u> .....	52
2.8.2.1	Modelo de Pseudo-primeira ordem ou de Lagergren.....	52
2.8.2.2	Modelo de Segunda Ordem.....	53
2.8.3	<u>Modelos de Equilíbrio</u> .....	53
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>55</b>
<b>3.1</b>	<b>Cultivo das microalgas verdes <i>Scenedesmus sp.</i> e <i>Monoraphidium sp.</i></b> .....	<b>55</b>
<b>3.2</b>	<b>Ensaio de Toxicidade</b> .....	<b>59</b>
<b>3.3</b>	<b>Ensaio de bioacumulação</b> .....	<b>66</b>
<b>3.4</b>	<b>Ensaio de biossorção do lantânio</b> .....	<b>74</b>
3.4.1	<u>Ensaio Cinético da biossorção do lantânio pela microalga livre <i>Scenedesmus sp.</i></u> .....	74
3.4.2	<u>Ensaio de Equilíbrio na biossorção do lantânio pela <i>Scenedesmus sp.</i></u> .....	76
3.4.3	<u>Ensaio cinético da biossorção do lantânio pela microalga livre <i>Monoraphidium sp.</i></u> .....	79
3.4.4	<u>Ensaio de equilíbrio para a <i>Monoraphidium.sp.</i></u> .....	81
<b>3.5</b>	<b>Ensaio de biossorção do cério</b> .....	<b>86</b>
3.5.1	<u>Ensaio Cinético da biossorção do cério pela microalga livre <i>Scenedesmus sp.</i></u> .....	86
3.5.2	<u>Ensaio de equilíbrio da biossorção do cério pela microalga <i>Scenedesmus sp.</i></u> .....	87
3.5.3	<u>Ensaio cinético da biossorção do cério pela <i>Monoraphidium sp.</i></u> .....	91
3.5.4	<u>Ensaio de equilíbrio da biossorção do cério pela <i>Monoraphidium sp.</i></u> .....	93
<b>3.6</b>	<b>Ensaio de biossorção do cério e lantânio, quando em sistema binário, pelas microalgas <i>Scenedesmus sp.</i> e <i>Monoraphidium.sp.</i></b> .....	<b>97</b>
3.6.1	<u>Ensaio cinético da biossorção da <i>Scenedesmus sp.</i> em sistema binário contendo cério e lantânio</u> .....	98
3.6.2	<u>Ensaio da comparação do equilíbrio da biossorção da <i>Scenedesmus sp.</i> pelos metais quando sozinhos e quando em sistema binário</u> .....	102

3.6.3	<u>Ensaio cinético da bioabsorção da <i>Monoraphidium</i> em sistema binário contendo cério e lantânio.....</u>	103
3.6.4	<u>Ensaio de comparação do equilíbrio da bioabsorção da <i>Monoraphidium</i> pelos metais quando sozinhos e quando em sistema binário.....</u>	106
	<b>CONCLUSÕES.....</b>	114
	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	115
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	116

## INTRODUÇÃO

Os elementos de terras raras (ETR's) incluem os 15 elementos na tabela periódica, também conhecidos como lantanídeos adicionados ao ítrio e ao escândio. Esses elementos compartilham propriedades químicas relacionadas à similar configuração eletrônica externa, que, em sua maioria, apresenta estado de valência +3. Os ETR's são hoje usados principalmente na produção industrial de artigos tecnológicos, sendo a China o maior produtor mundial dos ETR's. Estão naturalmente presentes no meio ambiente e alguns deles (principalmente  $\text{La}^{3+}$  e  $\text{Ce}^{3+}$ ) são largamente abundantes na natureza, mas ocorrem somente em quantidades traço em sistemas biológicos (d'Aquino et al., 2009).

Apesar dos efeitos benéficos dos ETR's em plantações não terem sido ainda claramente demonstrados, esses elementos são muito utilizados como enriquecedores de fertilizantes na China desde os anos de 1980 (Hu et al., 2004).

Os lantanídeos também vêm sendo largamente usados no campo da energia nuclear, metalurgia, eletrônicos, engenharias química e computacional e é esperado um aumento da demanda ao longo do tempo (Kondo e Kamio, 2002).

O interesse pelo lantânio tem aumentado devido as suas particulares propriedades físicas e químicas que estão relacionadas à demanda por novos materiais avançados. Diversas correntes de aplicação do lantânio como elemento puro ou em associação com outros componentes estão nos aparelhos fluorescentes, superligas, catalisadores, cerâmicas especiais e em síntese orgânica (Palmiere et al., 2002). Os sais de lantânio estão presentes nos catalisadores de zeólitas usados no refino de petróleo devido à sua ação estabilizante nas zeólitas à altas temperaturas.

O cério é um dos mais baratos e mais abundantes elemento de terras raras. Entretanto, alta pureza é requerida para sua utilização na indústria onde é empregado, por exemplo, para controle de enxofre no aço, em ligas pirofosfóricas, cerâmicas, suporte de catalisadores, entre outros. O cério é acompanhado por outros ETR's em seus minerais, assim como em combustível nuclear (Jelinek et al., 2006).



Devido à grande importância estratégica e econômica dos ETR's somada ao crescente aumento das preocupações com as questões ambientais que vêm junto ao se processarem esses elementos, estudos de métodos de remoção desses metais a partir de soluções aquosas têm sido crescentes nos últimos anos.

Vários são os métodos convencionais utilizados para remover lantanídeos de soluções aquosas, os quais incluem troca-iônica, extração por solvente, coagulação, precipitação química, adsorção e osmose reversa (Fu e Wang, 2011). Todos esses métodos convencionais apresentam algumas desvantagens, tais como o alto consumo de reagentes e energia, a baixa seletividade, os altos custos operacionais e a geração de poluentes secundários (Volesky, 2001). A biossorção pode então ser considerada uma opção para a recuperação de metais de soluções industriais diluídas, para a extração de radionuclídeos e lantanídeos a partir de minas lixiviadas e para a aplicação de recuperação de metal ou controle da poluição da água (Wase, 1997).

A biossorção baseia-se na remoção de metais ou espécies metalóides, compostos e particulados a partir de soluções, por materiais biológicos. O processo é rápido, econômico e a tecnologia é ecologicamente correta em comparação com os métodos convencionais (Ahuja *et al.*, 1999). As principais vantagens desta técnica são a reutilização do material, o baixo custo de operação, o aumento da seletividade para específicos metais de interesse, os baixos tempos de operação e nenhuma produção de compostos secundários que poderiam ser tóxicos (Karthikeyan e Balasubramanian, 2007).

Os biossorbentes utilizados para a remoção de íons metálicos pertencem às seguintes categorias: bactérias, fungos, algas, biomassas residuais industriais e agrícolas e os outros materiais polissacarídeos (Vijayaraghavan e Yun, 2008).

Dentre os microrganismos, as algas são de interesse predominante para a engenharia ambiental por causa da sua habilidade em sequestrar metais e porque algumas delas podem viver sob condições ambientais extremas, geralmente em abundância (Kalin *et al.*, 2005). São organismos ecologicamente importantes na cadeia alimentar aquática e são frequentemente utilizadas em estudos ambientais por apresentarem relativa toxicidade a várias descargas químicas e/ou residuais (Tai *et al.*, 2010)

Neste cenário, as microalgas verdes que são biossorbentes de íons metálicos em potencial, têm sido largamente estudadas não apenas por apresentarem grande capacidade de

captação de metais e também por serem bons indicadores biológicos da poluição ambiental. Isto porque as microalgas compõem o grupo dos produtores primários da cadeia alimentar e apresentam um curto tempo de resposta aos impactos ambientais (Hao et al., 1997).

Diante disso, a toxicidade dos elementos lantanídeos é amplamente estudada. Pesquisas revelam que os ETR's quando em baixas concentrações podem estimular o crescimento do fitoplâncton em diferentes extensões. É o que ocorre com a cianobactéria *Microcystis aeruginosa* Kütz (Qian et al., 2003) e com a alga verde *Selenastrum capricornutum* Printz (Yin et al., 1998), por exemplo. Entretanto, com a alga *Chlorella ellipsoidea* Gren. (Hu et al., 1996) não se verificou estimulação do crescimento. Por outro lado, estudos revelaram que altas concentrações do lantânio podem inibir o crescimento do fitoplâncton, como se verificou no crescimento da *Myrcocystis* em cultura batelada (Lin et al., 2003).

Pelo fato dos ETR's apresentarem efeitos biológicos sobre o fitoplâncton, muitos trabalhos são desenvolvidos neste sentido, para se verificar a capacidade de microrganismos em bioacumular os metais lantanídeos. Algumas pesquisas sobre bioacumulação de elementos de terras raras revelaram a capacidade de certos microrganismos em absorver tais elementos e, com isso, surge a necessidade de se verificar a natureza do processo de remoção dos metais estudados bem como a capacidade que as microalgas verdes apresentam em absorver o lantânio. Isto porque, em se tratando da captação do metal por microrganismos metabolicamente ativos, existe uma chance de que o processo envolvido na remoção dos metais não seja apenas o da biossorção das espécies metálicas (que é um mecanismo passivo de adsorção do metal na superfície microbiana, que independe da viabilidade celular) mas também o da bioacumulação (que é um mecanismo metabolicamente ativo, dependente da viabilidade celular).

Com relação aos estudos sobre bioacumulação há ainda muitas controvérsias quanto aos mecanismos de absorção. Algumas pesquisas sugerem que os elementos de terras raras não são absorvidos por células vivas (Evans, 1983). No entanto, alguns outros trabalhos revelaram a absorção dos elementos de terras raras em compartimentos celulares da alga verde unicelular *Euglena gracilis* 277 (Kang et al., 2000) e no citoplasma de cepas do fungo *Trichoderma* (d'Aquino et al., 2009) dentre outros.

Dessa forma, o objetivo geral da presente dissertação é estudar as interações entre o lantânio e o cério com as microalgas verdes, *Monoraphidium* sp. e *Scenedesmus* sp.. Deve-se

considerar que estes microrganismos foram escolhidos por constituírem-se base da cadeia alimentar e por serem os precursores da possível magnificação de elementos de terras raras em seres superiores. Além disso, são dois gêneros de microalgas que possuem morfologias diferentes tornando relevante a observação desta característica na diferença de captação dos metais estudados.

Sendo assim, para atingir o objetivo geral, foram planejados os seguintes objetivos específicos:

- Estudar a cinética e o equilíbrio da bio sorção do lantânio e do cério quando presentes sozinhos em solução e quando presentes conjuntamente, em sistema binário.
- Proceder a modelagem dos dados buscando a análise do mecanismo de captação envolvido na bio sorção dos metais lantânio e cério pelas microalgas verdes.
- Realizar estudos de toxicidade a fim de se detectar a concentração limite de lantânio não inibitória ao crescimento mantendo a viabilidade celular das duas microalgas trabalhadas.
- Verificar a capacidade dos dois gêneros de microalgas estudadas em bioacumular o lantânio através de análises macroscópicas e microscópicas das células sob cultivo em meio contaminado com o elemento de terras raras.

A apresentação desta dissertação encontra-se dividida da seguinte forma:

Primeiramente é feita uma introdução que diz respeito ao tema que foi desenvolvido e contém também os objetivos e a estrutura organizacional do trabalho.

Em seguida a revisão bibliográfica é apresentada, onde são abordados temas relevantes sobre a importância dos elementos de terras raras, algumas características das microalgas verdes, a bio sorção de metais quando sozinhos em solução e quando presentes em soluções multimetálicas, toxicidade lantânio sobre as microalgas verdes e bioacumulação do lantânio pelos dois gêneros de microalgas estudados.

Logo após é descrita a metodologia que foi desenvolvida neste estudo.

Na sequência são apresentados os resultados obtidos juntamente com as discussões sobre todos os ensaios realizados.

Por fim, são apresentadas as principais conclusões e levantadas algumas sugestões para trabalhos futuros.

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Metais de terras raras

Os elementos de terras raras (ETR's) são um grupo de metais que compreende um conjunto de 15 ou 16 elementos da tabela periódica, especificamente os 14 lantanídeos (Pm, cujos isótopos são radioativos com meia-vida curta, é geralmente excluído), ítrio e algumas vezes, escândio. (Moriwaki e Yamamoto, 2013). Todos são encontrados no grupo 3 da tabela periódica. A série dos lantanídeos é nomeada depois do lantânio. Os membros da série são assim chamados lantanídeos porque todos exibem propriedades muito parecidas com as do lantânio. Dessa forma, eles são agrupados porque possuem propriedades muito similares tais como as mesmas camadas eletrônicas e similares configurações eletrônicas de modo que suas propriedades diferem um pouco, com o número atômico. (Yoshida et al., 1997)

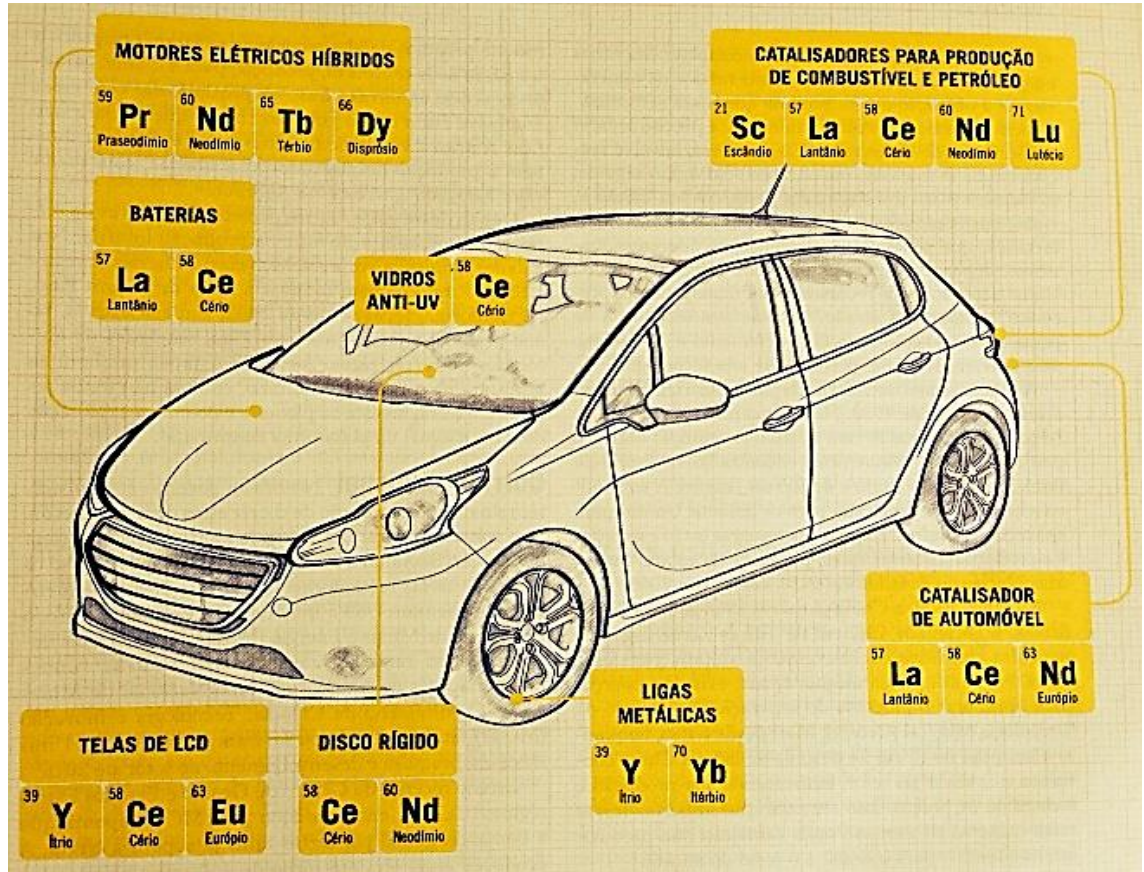
Os elementos de terras raras geralmente caem em duas categorias, elementos de terras raras leves (ETRL) e elementos de terras raras pesados (ETRP), com níveis variados de usos e demanda. Os ETRL's incluem lantânio (La), cério (Ce), praseodímio (Pr), neodímio (Nd), samário (Sm) e os ETRP's incluem európio (Eu), gadolínio (Gd), térbio (Tb), disprósio (Dy), hólmio (Ho), érbio (Er), túlio (Tm), itérbio (Yb), lutécio (Lu), ítrio (Y) na qual são menos comuns e mais valiosos. (Emmanuel et al., 2012)

Os metais de terras raras são mais abundantes na crosta terrestre do que muitos outros metais já bem conhecidos. Os outros metais são bem conhecidos, em parte, porque a natureza os tem concentrado de uma forma que permite que sua recuperação seja econômica. (Korenevsky, 1999)

Os elementos de terras raras estão se tornando importantes devido às suas propriedades químicas e físicas únicas, e suas aplicações no campo da engenharia química, metalurgia, energia nuclear, materiais ópticos, magnéticos, luminescentes e à laser, supercondutores de alta temperatura, baterias secundárias, etc. (Maestro e Huguenin, 1995).

São muitas as aplicações dos ETR's na indústria, como observa-se na figura 1.

Figura 1 - Algumas aplicações dos elementos de terras raras.



Fonte: Ciência Hoje, 2013.

Existe grande quantidade de reservas internacionais e nacionais de ETR's de forma que estes não são tão raros: sua abundância é maior que a de minerais de prestígio, como o ouro. Do ponto de vista geoquímico, os elementos de terras raras são elementos “dispersos”, mais espalhados entre muitos minerais comuns do que concentrados em um pequeno grupo de minerais. Os elementos de terras raras ocorrem principalmente como constituintes-traço dos minerais formadores de rochas comuns e, parcialmente, em minerais acessórios, nos quais os elementos de terras raras são, ou constituintes essenciais (por exemplo, monazita), ou estão concentrados (por exemplo, apatita) (Haskin e Paster, 1979). Não há jazidas exclusivas desses elementos. Eles sempre ocorrem com outros do seu grupo, em baixas concentrações, e associados a outros minérios (como monazita, bastnasita e xenotima), o que torna sua extração complexa.

Os ETR's estão presentes nos minérios de titânio, zircônio, estanho, tungstênio, urânio, bauxitas e alguns outros. Estes minérios que agora produzem elementos de terras raras como co-produtos, podem se tornar sua principal fonte, pois durante o complexo tratamento destes minérios, os elementos de terras raras são acumulados nos resíduos (soluções, escórias, lamas, etc), em concentrações que excedem muito seus conteúdos iniciais nos minérios (Korenevsky, 1999).

Enquanto os elementos de terras raras são relativamente abundantes na crosta terrestre, eles não representam uma ameaça tóxica comum. Entretanto, as concentrações desses elementos nos minérios que poderiam ser extraídos de maneira viável, são geralmente menores que para a maioria dos outros metais. Acredita-se que fontes não descobertas são muito maiores em relação à demanda esperada (Hedrick, 2001).

Conforme reportagem da revista *Ciência Hoje* (2013), um estudo recente do Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE), aponta que a demanda global por terras raras já supera a oferta. A produção atual gira em torno de 150 mil toneladas por ano, mas a procura já ultrapassa 165 mil toneladas por ano e prevê-se que alcançará 210 mil em 2014. Hoje, a China detém as maiores reservas conhecidas de terras raras, cerca de 36 milhões de toneladas, e controla 95% da produção mundial. Estados Unidos e Austrália vêm logo atrás, com 6,4% e 3,6% da produção mundial, respectivamente. Além disso, a China também possui domínio completo das várias etapas da cadeia produtiva de terras raras – da mineração até a obtenção de um produto que possa ser utilizado pela indústria. No Brasil, a recente descoberta de enormes reservas de terras raras em Araxá (MG) coloca-o em segundo na lista das maiores reservas mundiais. Além de Minas Gerais, há terras raras em vários estados brasileiros, em especial Goiás e Amazonas e as pesquisas revelam que a mina de fosfato de Catalão (GO) pode ter reservas de terras raras que superem às da China.

Os preços dos elementos de terras raras dependem da pureza e da qualidade. A flutuação dos preços é usualmente devido à oferta e procura, legislação ambiental e fatores econômicos, especialmente inflação e custos energéticos. (Volesky e Diniz, 2005). A alta de preços, para a maioria dos elementos, e a rápida expansão das suas aplicações resultam em um aumento da pressão para a produção desses elementos e a minimização das perdas na produções industriais tem se tornado um importante objetivo. A ênfase das pesquisas tem apostado cada vez mais na remoção mais efetiva e de menor custo e na recuperação dos elementos de terras raras para o processo industrial (Diniz e Volesky, 2005).

### 1.1.1. Elementos de terras raras e o meio ambiente

Além do fator econômico, fatores ambientais relacionados à presença dos elementos de terras raras em ambientes aquáticos também deve ser estudados com atenção. Isto porque tais elementos têm sido largamente usados por décadas como fertilizantes para aumentar a produção agrícola na China, resultando em um acúmulo cada vez maior dos ETR's em ambientes aquáticos. Como resultado, mais e mais elementos de terras raras são acumulados em ambientes aquáticos. A resposta do fitoplâncton, que é produtor primário, para os elementos de terras raras tem atraído muita atenção para outras culturas aquáticas (Hu *et al.*, 2004).

As técnicas para separação e purificação dos elementos de terras raras ganharam importância com o aumento da demanda por estes elementos (Moriwaki e Yamamoto, 2013). Estas incluem adsorção, troca iônica, extração por solvente, coagulação, flotação, hiper-filtração, precipitação química e osmose reversa. No entanto, a maioria dos reagentes utilizados em algumas destas técnicas podem ser caros e podem ser tóxicos por si só. Outras desvantagens dos métodos tradicionais são o alto consumo de reagente e energia, baixa seletividade, alto custo operacional e geração de metabólitos secundários (Wu *et al.*, 2004). Dessa forma, existe uma necessidade em desenvolver um método de baixo custo e ecologicamente correto para recuperar os metais de terras raras do ambiente aquoso (Das, N. e Das, D., 2013).

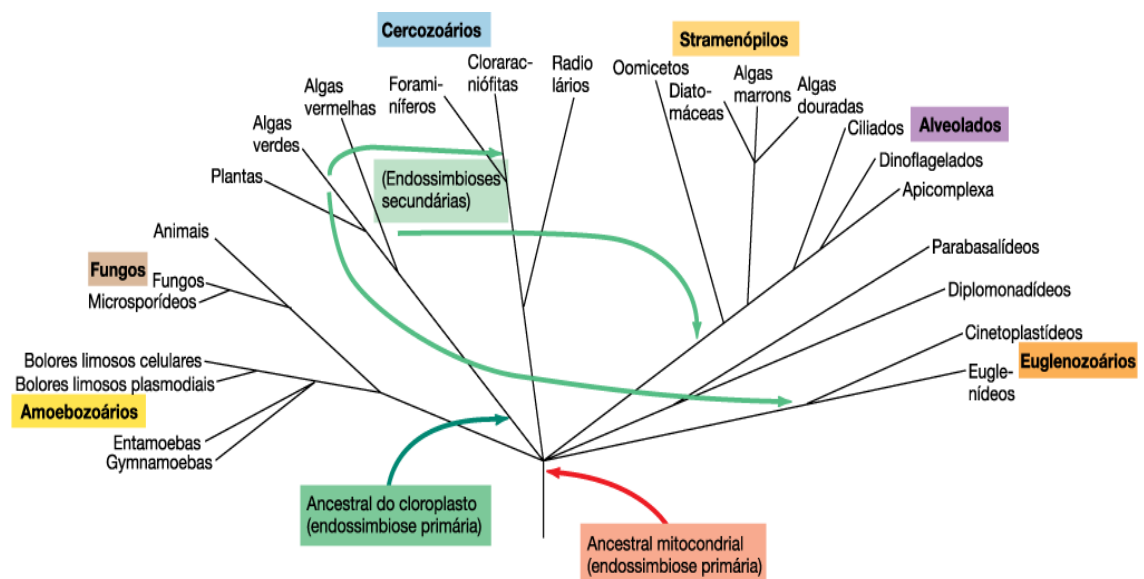
A biossorção pode ser uma candidata para a recuperação destes metais a partir de soluções industriais aquosas diluídas e para a extração de lantanídeos de minas lixiviadas (Wase, 1997). Sendo assim, a atenção nas pesquisas tem focado na biossorção que é um método de baixo custo, que tem demonstrado ser rápido, reversível, de tecnologia economicamente e ecologicamente adequada e viável quando comparada aos métodos convencionais para a recuperação dos metais de terras raras (Qing, 2010).



## 1.2. Microalgas verdes

As microalgas e as macroalgas pertencem ao domínio *Eukarya*. A figura 2 apresenta a árvore filogenética que foi construída baseada em análises comparativas de sequências de RNA ribossomal 18S, obtidas de ribossomas citoplasmáticos (Madigan, 2010).

Figura 2 - Árvore filogenética de *Eukarya*.



Fonte: Madigan, 2010.

As microalgas consistem em uma variedade de organismos eucarióticos (possuem estruturas delimitadas por membranas, as organelas). São algas microscópicas (5-50  $\mu\text{m}$ ). Todas possuem clorofila a e clorofila b que se apresentam na estrutura de cloroplastos, organela verde onde as funções de coleta de luz envolvidas na fotossíntese ocorrem. As células das algas podem conter um ou mais cloroplastos armazenando o pigmento fotossintetizante. Sintetizam compostos de reserva de carbono - polímero reserva, amido. São fotoautotróficas, pois é através da fotossíntese que utilizam o dióxido de carbono como fonte de carbono e produzem oxigênio. Sendo organismos autotróficos, utilizam o ATP como fonte de energia para a fixação do  $\text{CO}_2$  (Madigan *et al.*, 2010, Pelczar, 1997).

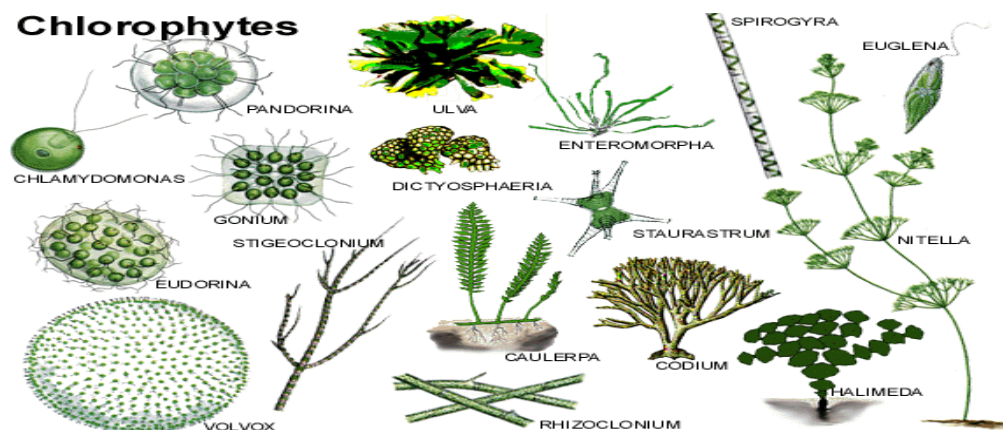
Várias características são utilizadas para classificar as algas, incluindo a natureza das clorofilas presentes, os polímeros de reserva de carbono produzidos, a estrutura da parede celular e o tipo de mobilidade. Todas as algas contêm clorofila a. Algumas, entretanto,

também contêm outras clorofilas que diferem um pouco da clorofila a. A presença destas clorofilas adicionais é característica de grupos particulares de algas (Madigan *et al.*, 2010).

Os grupos de algas incluem: *Chlorophyta* (alga verde), *Euglenophyta* (euglenóide também considerados como protozoários), *Chrysophyta* (alga dourada, diatomácea), *Phaeophyta* (alga marrom), *Pyrrophyta* (dino-flageladas) e *Rhodophyta* (alga vermelha). Uma das características chave utilizadas na classificação dos grupos de algas é a natureza do polímero reserva sintetizado como resultado da fotossíntese. Algas da divisão *Chlorophyta* produzem amido de uma forma muito similar à das plantas superiores. Por outro lado, algas de outros grupos produzem uma grande variedade de substâncias de reserva, algumas poliméricas e outras como monômeros livres (Wang e Chen, 2009).

As microalgas verdes pertencem ao grupo das clorófitas, ou algas clorófitas, e representam as algas mais numerosas e espalhadas pelos ambientes da Terra. Os organismos desse grupo vivem na água (doce ou salgada), na terra úmida e em locais secos, sobre troncos de árvore ou em mutualismo com fungos, formando líquens. Há espécies unicelulares e outras pluricelulares. Existem desde formas microscópicas até formas que podem atingir 8 metros de comprimento (Madigan *et al.*, 2010) como apresentado na figura 3.

Figura 3 - Diversidade de formas e tamanhos das algas do grupo das clorófitas.

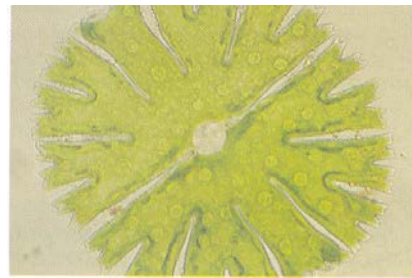


Fonte: botany.hawaii.edu.

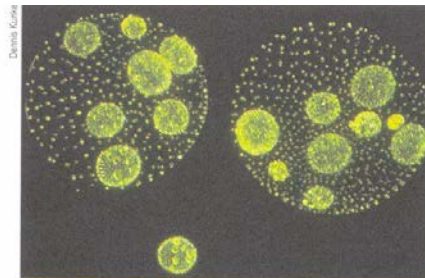
Morfologicamente é um grupo muito diversificado, existindo formas unicelulares, coloniais, filamentosas e parenquimatosas, conforme apresentado na figura 4 que ilustra as diversas formas e arranjos de algumas microalgas. Estas podem ser unicelulares (figuras 4a e

4c) ou coloniais (figura 4b). Os arranjos são lineares para as filamentosas que podem ser ramificadas ou não (figura 4c) (Madigan *et al.*, 2010).

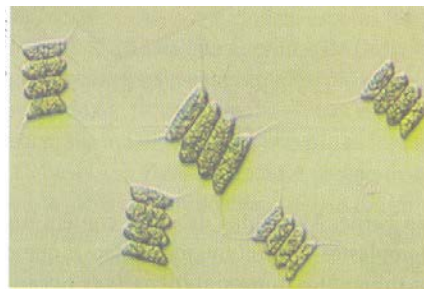
Figura 4 - Micrografia em campo claro de representantes de microalgas verdes.



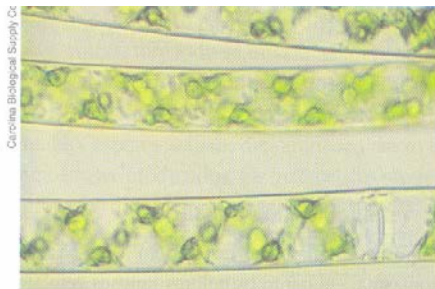
(a)



(b)



(c)



(d)

Legenda: (a) *Microsterias*. Uma célula única. (b) Colônia de *Volvox* (contendo um grande número de células). (c) *Scenedesmus*. Pacote de quatro células. (d) *Spirogyra*, uma alga filamentosas.

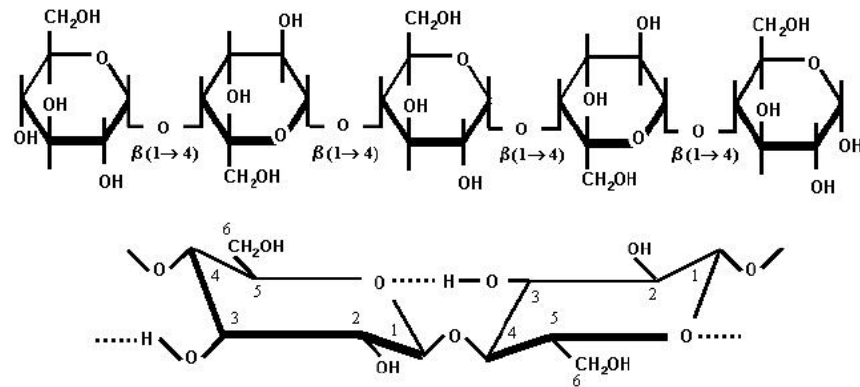
Fonte: Madigan et al., 2010.

A célula das algas é envolta por uma parede celular rígida e fina. O núcleo tem um envelope nuclear típico com poros. Os cloroplastos têm sacos ligados à membrana chamados tilacóides que realizam as reações de luz da fotossíntese. Estas organelas estão no citoplasma onde as reações da fase escura de fixação do dióxido de carbono ocorrem.

A parede celular das algas é constituída de uma rede de fibras de celulose (figuras 5 e 6), mas é geralmente modificada pela adição de outros polissacarídeos tais como pectina, xilose, manose, ácidos algínicos ou ácidos fuccínicos (Wang e Chen, 2009).

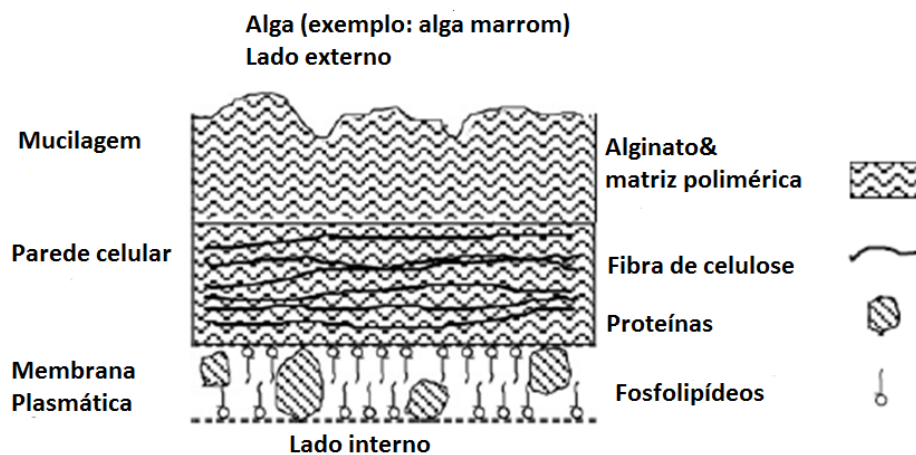
As algas verdes (Clorófitas) possuem parede celular composta principalmente de celulose e uma alta percentagem da parede celular é proteína ligada a polissacarídeo para formar glicoproteínas. (Romera et al., 2006). Possuem clorofila a e b e estocam carboidratos na forma de amido.

Figura 5 - Cadeia de celulose formada pela união de unidades  $\beta$ -D-glicopirranose.



Fonte: ckyanamoto-sustentabilidade.blogspot.com.

Figura 6 - Esquema da estrutura da parede celular de alga.



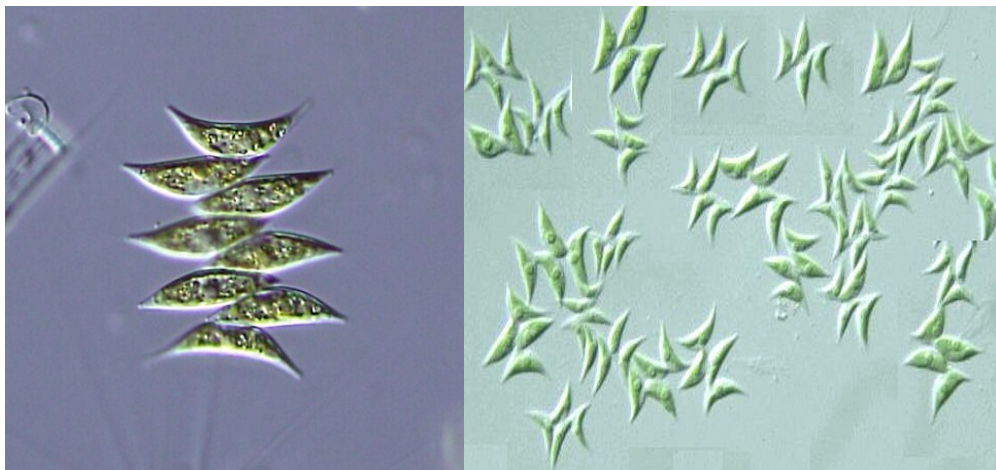
Fonte: Volesky, 2007.

As paredes celulares das algas são livremente permeáveis para constituintes de baixa massa molecular, tais como água, íons, gases e outros nutrientes úteis para o metabolismo e crescimento. Suas paredes celulares são essencialmente impermeáveis, entretanto, para

moléculas grandes ou para macromoléculas. A parede celular das algas contém poros de 3-5 nm de largura. (Madigan et al., 2010).

As espécies do gênero *Scenedesmus* sp. têm sido largamente utilizadas para propósitos industriais porque é de fácil cultivo e adaptação para as condições ambientais (Li et al., 2005). Podem se apresentar na forma de talos únicos, unicelular, ou colonial. As colônias podem ter de 4 a 8 células as quais apresentam-se dispostas linearmente, tocando-se pelas paredes laterais. São células de 3-78 x 2-10 nm, de esféricas a elipsoidais e podem ser alongadas ou fusiformes. Possuem pólos obtusos, agudos ou sob a forma de longos filamentos. A parede celular é celulósica. A reprodução é assexuada por autoesporulação; a liberação dos poros ocorre por ruptura da parede celular da célula mãe. Apresentam cloroplasto único e parietal com único pirenóide. A ocorrência da *Scenedesmus* é plantônica, principalmente em lagoas de água doce e lagos eutróficos, raramente em água salobra. Apresenta-se em todo o mundo em todo o clima. Existem 467 espécies no banco de dados até o momento na qual 78 foram sinalizados com atualmente aceitos taxonomicamente (AlgaeBase, 2014). A figura 7 apresenta a fotomicrografia da microalga do gênero *Scenedesmus*.

Figura 7 -Fotomicrografia da *Scenedesmus* sp.



Fonte: ProtistInformation Server, 2014.

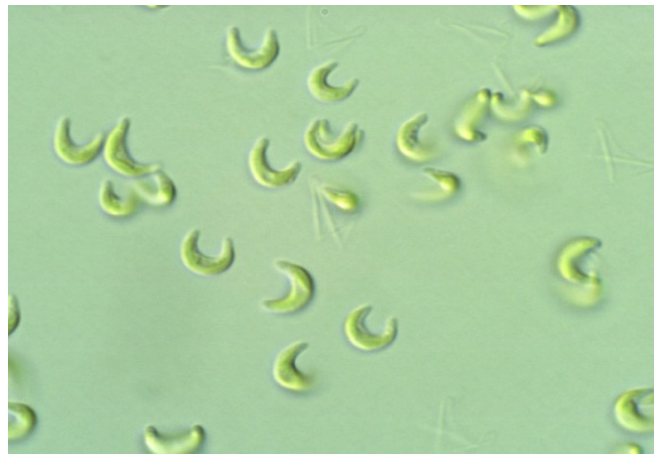
A microalga verde *Monoraphidium* sp. apresenta-se de forma unicelular, não embutida no envelope de mucilagem. As células são de retas para semilunares, ou sigmóides ou helicoidais torcidas, muitas vezes com finais alongados. A parede celular é suave. Possuem



células uninucleadas e o cloroplasto é único ou parietal. O pirenóide é ausente ou, quando presente, composto e sem envelope de amido. A reprodução é assexuada por autoesporulação. As microalgas de gênero *Monoraphidium* fazem parte do fitoplâncton, estão presentes em água doce ou no solo. Encontradas na Europa, Ásia e América do Norte (Algaebase, 2014).

A figura 8 apresenta a fotomicrografia de microalga verde do gênero *Monoraphidium* sp.. A espécie desta fotomicrografia exibe um tipo morfológico semilunar.

Figura 8 - Fotomicrografia da *Monoraphidium* sp.



Fonte: AlgaeResourceDatabase.

### 1.3. Biossorção

A biossorção pode ser definida como a remoção de espécies metálicas ou metalóides, compostos e particulados a partir de soluções por materiais biológicos sem vida (Davis et al., 2003). Outra definição mais abrangente considera a biossorção como a ligação de metais a biomassas por um processo (via mecanismo físico-químico tal qual adsorção ou troca iônica) que não envolve energia ou transporte metabólico, apesar destes processos poderem também ocorrer simultaneamente quando biomassa viva é usada (Tobin et al., 1994).

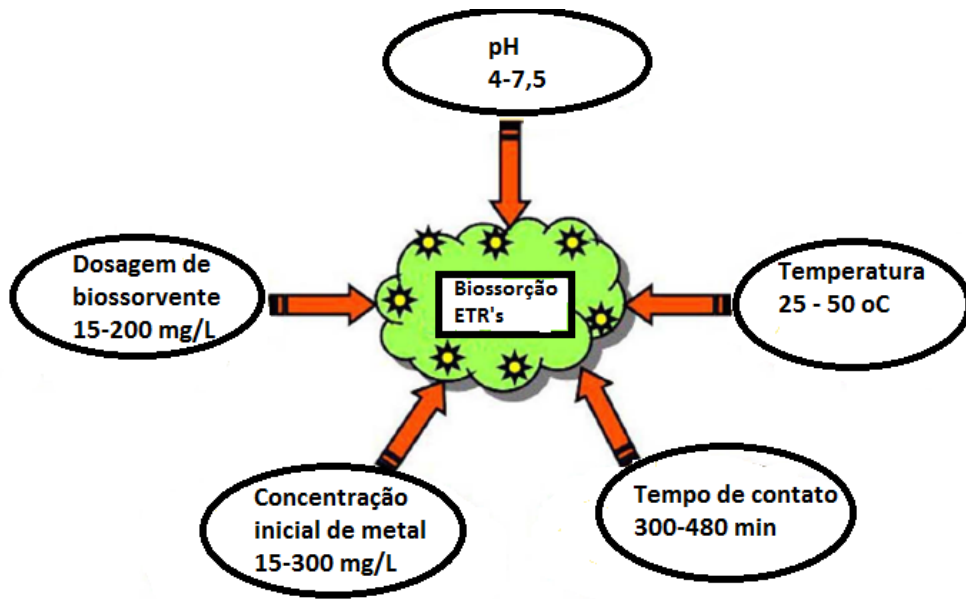
A biossorção é um dos métodos biológicos emergentes que possui várias vantagens sobre os métodos convencionais. Este processo não produz qualquer lama química, é de fácil operação e muito eficiente para remover os poluentes de soluções muito diluídas. A maior vantagem é que ele pode ser usado *in situ*, com *design* próprio, e pode ser integrado com muitos sistemas (Tewari et al., 2005 apud Das, N. e Das, D., 2013). Os investimentos iniciais para o desenvolvimento da biossorção nos processos industriais são de baixo custo quanto aos biossorventes e são de alta eficiência para remoção dos metais (especialmente em soluções de baixa concentração). Além disso, o biossorvente pode ser regenerado (e o metal de interesse também), é rápida a cinética de adsorção e de dessorção e não gera resíduos secundários (Kratochvil e Volesky, 1998).

Dentre os biossorventes disponíveis, as biomassas das algas são de particular interesse uma vez que elas possuem alta capacidade de ligarem-se a metais devido às suas superfícies conterem polissacarídeos, lipídeos ou proteínas, possuindo dessa forma numerosos sítios ligantes de metais, tais como carboxilas, hidroxilas, carbonilas, sulfidrilas, tioéter, sulfonatos, aminas, iminas, amidas, imidazóis, grupos fosfato e fosfodiéster (Yu et al., 1999 apud Chen et al., 2012).

Existem vantagens em se utilizar superfícies de células microbianas como adsorventes devido à alta eficiência de adsorção dos metais dissolvidos e porque as células microbianas possuem uma elevada área superficial por unidade de peso.

Há vários fatores importantes que influenciam a biossorção em batelada dos elementos de terras raras (figura 9) como o pH, a temperatura, a dosagem de biossorvente, a concentração inicial de metal, a taxa de agitação e o período de contato. Os experimentos em bateladas geralmente focam nestes fatores para avaliar o potencial de biossorção completo dos elementos de terras raras.

Figura 9 - Faixas de parâmetros que afetam a bioissorção dos ETR's.

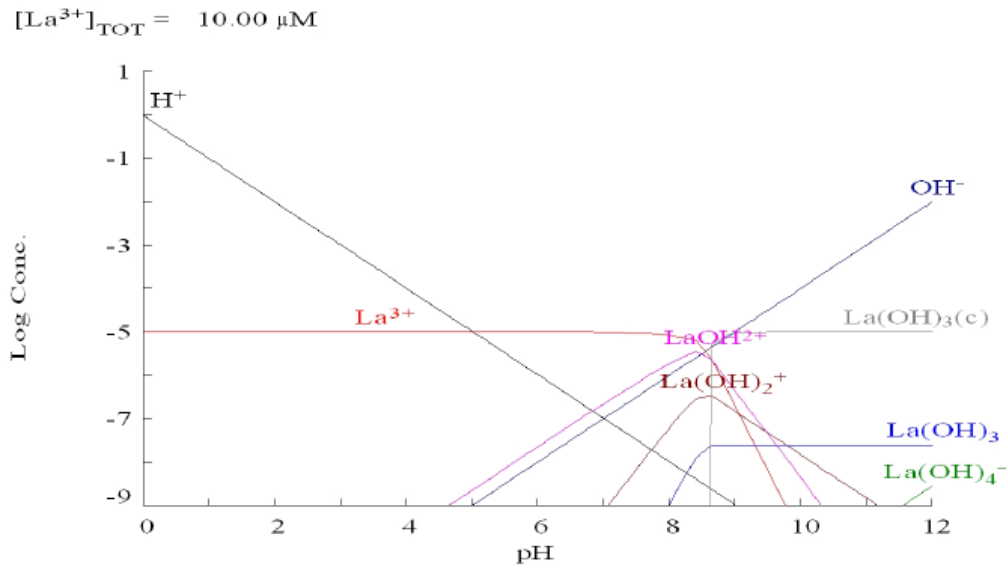


Fonte: DAS, N. e DAS, D., 2013.

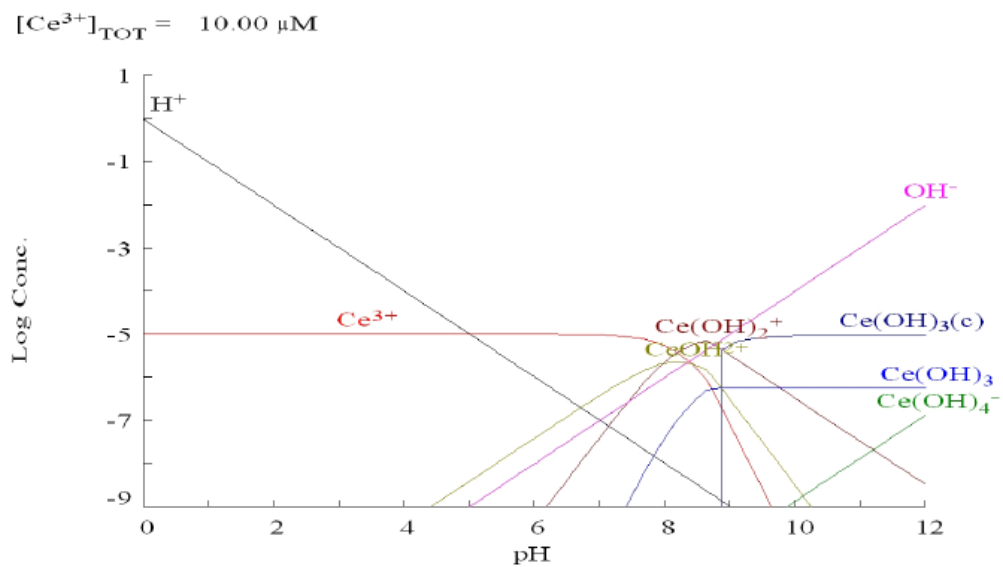
O pH da solução é um fator importante do processo de bioissorção que afeta a especiação dos metais em solução através da hidrólise, complexação e reações redox durante a recuperação do metal. Este fator é capaz de influenciar não somente o estado de dissociação dos sítios ligantes, mas também a química da solução do metal de interesse em termos de hidrólise, complexação por ligantes orgânicos e inorgânicos e potenciais redox (Esposito et al., 2002). A figura 10 apresenta a curva de especiação do lantânio (a) e do cério (b).



Figura 10 - Diagrama de especiação em função do pH.



(a)



(b)

Legenda: (a) Para o lantânio e (b) Para o cério.

Fonte: Bertuol, 2007.

Vários trabalhos foram reportados na literatura para analisar a influência do pH na biossorção dos elementos de terras raras. Palmiere et al., 2002, estudaram a biossorção do lantânio utilizando *Sargassum fluitans* em sistema batelada e verificaram que a biossorção do lantânio em pH maior que 5 não foi considerado porque a precipitação ocorreu em solução, especialmente em concentrações acima de 1,0 mmol/L, que indica a hidrólise do íon metálico com a formação do correspondente hidróxido insolúvel. A maior biossorção do La(III) e Ce(III) no pó de folha de *P. orientalis* foi obtido em pH 4,0 no estudo de Sert et al.(2008). A influência do pH foi também estudada por Qing (2010) que verificou o aumento da capacidade de adsorção para o La(III) com o aumento do valor de pH. Segundo o autor, a maior capacidade de adsorção se deu em pH 7,5.

A temperatura também influencia na biossorção dos íons metálicos e muitos trabalhos foram realizados para verificar essa influência durante o processo de biossorção. No estudo de efeito da temperatura do La(III) e Ce(III) pela *Agrobacterium* sp. HN1 realizado por Xu et al.(2011) os ensaios realizados na faixa de temperatura de 35-40°C tiveram suas performances de bioadsorção alteradas, fato que não se verifica quando a faixa de temperatura é de 25-30°C.

A dosagem de biossorvente influencia fortemente a biossorção. Um aumento na concentração da biomassa geralmente aumenta a quantidade de soluto adsorvido. Devido ao aumento da área superficial do biossorvente, o número de sítios ligantes aumenta (Esposito et al., 2001). Por outro lado, a quantidade de soluto adsorvido por unidade de peso do biossorvente decresce com o aumento da dosagem do biossorvente que pode ser devido à uma complexa interação que envolve vários fatores. No caso de altas dosagens de adsorvente, o soluto disponível é insuficiente para cobrir completamente os sítios permutáveis disponíveis no biossorvente, geralmente resultando em uma baixa captação do soluto (Tangaromsuk et al., 2002).

A concentração inicial de metal também é um dos fatores que influenciam na biossorção. A quantidade de La(III) e Ce(III) adsorvido na biomassa de *P. orientalis* (mg/g) aumentou com a concentração inicial dos íons metálicos, conforme constataram os autores Sert et al. (2008) em seus trabalhos.

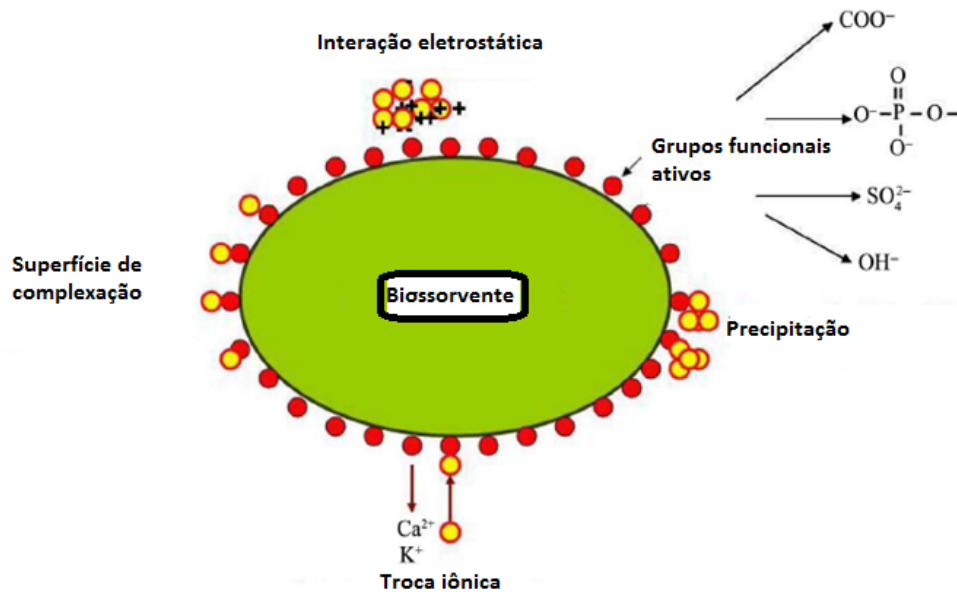
Um aumento do tempo de contato entre o biossorvente e o metal a ser captado pode também aumentar a capacidade de captação do biossorvente. Qing (2010), concluiu que a rápida adsorção nos tempos iniciais foi provavelmente devido ao aumentado gradiente de concentração entre o adsorbato na solução e no adsorvente assim como foi o aumentado

número de sítios desocupados disponíveis no início. A rápida captação inicial do La(III) foi uma adsorção física uma vez que o fenômeno de adsorção tende a atingir instantaneamente o equilíbrio. Com o aumento do tempo de contato, mais e mais grupos funcionais participaram da adsorção dos íons metálicos até o equilíbrio ser atingido. Depois de atingido o equilíbrio, nenhuma mudança significativa na concentração do lantânio foi observada na solução.

Os mecanismos envolvidos na acumulação de metais em sítios de biossorção são numerosos e isto é um processo complicado (figura 10). Em muitos casos a ligação do metal segue através de uma interação eletrostática, complexação na superfície, troca iônica e precipitação, fenômenos que ocorrem individualmente ou combinados (Oliveira et al., 2011). A natureza da biomassa (viva ou morta), tipos de biomateriais, propriedades químicas da solução metálica e condições ambientais/circundantes (tais como pH), influenciam o mecanismo de biossorção dos elementos de terras raras.

O processo de biossorção por células vivas é um mecanismo de duas etapas. Na primeira etapa, os íons metálicos são adsorvidos na superfície das células por interações entre os metais e os grupos funcionais dispostos na superfície das células. Todos os íons metálicos antes de ganharem acesso à membrana celular e chegarem ao citoplasma da célula se deparam com a parede celular. A parede celular consiste de uma variedade de polissacarídeos e proteínas e por isso oferece vários sítios ativos capazes de ligar íons metálicos. Diferenças na composição da parede celular entre os diferentes grupos de microrganismos tais como algas, fungos, bactérias, leveduras causam significativas mudanças no tipo e quantidade de íons metálicos ligados a eles (Goyal et al., 2003).

Figura 11 - Vários mecanismos de biossorção dos elementos de terras raras.



Fonte: Oliveira et al., 2011.

A afinidade dos metais por ligantes está ilustrada na Tabela 1. O símbolo R representa um radical alquil. Os íons metálicos da classe A, que incluem os lantanídeos e os actinídeos, preferem se ligar aos ligantes de I através do oxigênio.

Tabela 1 - Os ligantes presentes em sistemas biológicos e as três classes de metais.

Classe de ligantes	Ligantes	Classes de Metais
I: Ligantes preferidos à classe A	$F^-$ , $O^{2-}$ , $OH^-$ , $H_2O$ , $CO_3^{2-}$ , $SO_4^{2-}$ , $ROSO_3^-$ , $NO_3^-$ , $HPO_4^{2-}$ , $PO_4^{3-}$ , $ROH$ , $RCOO$ , $C=O$ , $ROR$	Classe A: Li, Be, Na, Mg, K, Ca, Sc, Rb, Sr, Y, Cs, Ba, La, Fr, Ra, Ac, Al, Lantanídeos e Actinídeos
II: Outros importantes ligantes	$Cl^-$ , $Br^-$ , $N_3^-$ , $NO_2^-$ , $SO_3^{2-}$ , $NH_3$ , $N_2$ , $RNH_2$ , $R_2NH$ , $R_3N$ , $=N^-$ , - $CO-N-R$ , $O^{2-}$ , $O_2^{2-}$	Íons: Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Cd, In, S, Sb, As
III: Ligantes Preferidos à classe B	$H^-$ , $I^-$ , $R^-$ , $CN^-$ , $CO$ , $S^{2-}$ , $RS^-$ , $R_2S$ , $R_3As$	Classe B: Rh, Pd, Ag, Lr, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi

Fonte: Remacle, 1990.

De acordo com o Princípio de Ácidos e Bases Duros e Macios, íons duros que se ligam fortemente ao  $F^-$ , tais como  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , podem formar ligações estáveis com  $OH^-$ ,  $HPO_4^{2-}$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $R-COO^-$  e  $=C=O$ , nos quais tem ligantes contendo oxigênio. Já os íons macios, tais como  $Hg^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ , formam fortes ligações com grupamentos iônicos como  $CN^-$ ,  $R-S^-$ ,  $-SH^-$ ,  $NH_2^-$ , que são grupos que contém átomos de nitrogênio e de enxofre. (Remacle, 1990).

Volesky (2007), resumiu os mais importantes destes grupos que incluem carbonila (cetona), carboxila, sulfidril (tiol), sulfonatos, tioéter, amina, amina secundária, amida, imina, imidazol, fosfato e fosfodiéster. A tabela 2 apresenta os grupos funcionais representativos e as classes dos compostos orgânicos presentes na biomassa.

Tabela 2 - Grupos funcionais representativos e classes de compostos orgânicos presentes nas biomassas.

<b>Fórmula dos grupos funcionais</b>	<b>Nome</b>	<b>Classe dos compostos</b>
$R - O - H$	Hidroxila	Álcoois, carboidratos
$R - COOH$	Carboxila	Ácidos graxos, proteínas e ácidos orgânicos
$R - CH_2 - NH_2$	Amina	Proteínas e ácidos nucleicos
$R - COOR$	Éster	Lipídeos
$R - CH_2 - SH$	Sulfidril	Cisteína(aminoácido), proteínas
$R - COH$	Carbonila (terminal)	Aldeídos e polissacarídeos
$R - CO - C - \dots$	Carbonila (interna)	Cetonas e polissacarídeos
$R - O - P = O(OH)_2$	Fosfato	DNA, RNA, ATP

Fonte: Talaro, K. e Talaro, A., 2002, *apud* Wang and Chen, 2009.

A biossorção de metais é geralmente estudada em sistemas contendo apenas um metal. Entretanto muitos metais coexistem em corpos d'água naturais ou em resíduos aquosos. Uma vez que a biossorção é uma forma de remoção de contaminantes a partir de corpos d'água naturais ou de efluentes industriais, o conhecimento de como um metal pode influenciar a captação de outro em sistemas multimetálicos é de suma importância. Neste caso a biossorção

torna-se competitiva, onde um metal compete com outro para ocupar os sítios ligantes (Vijayaraghavan et al., 2011).

A afinidade de uma biomassa por um íon particular pode estar correlacionada com sua massa atômica, eletronegatividade e raio iônico (Sengil e Özacar, 2009). Quando todos os lantanídeos estão juntos competem pelos mesmos sítios ligantes, decrescendo a capacidade de captação individual do lantanídeo que poderia ser obtida se outros não estivessem presentes no sistema. De acordo com Pearson (1963), La, Ce, Eu e Yb podem ser classificados como metais duros e pertencem à classe A. Dessa forma, a sugestão razoável do autor é que o mais significativo grau de competição iônica ocorre para metais que pertencem à mesma classe.

Uma ordem de afinidade da biomassa por metais em solução multimetálica também pode ser explicada pelo parâmetro estrutura da água. No trabalho de Vijayaraghavan et al.(2011) os autores verificaram que os mais baixos valores desse parâmetro indicam uma maior afinidade dos metais pelo bioissorvente.

Vijayaraghavan e Balasubramanian (2010) estudaram a captação de Ce(III) e Eu(III), presentes em sistema metálico binário, por partículas de casca de caranguejo. Verificaram o decréscimo da captação de bioissorção dos íons lantanídeos quando comparada aos sistemas contendo os metais individualmente.

#### **1.4. Toxicidade**

Os elementos de terras raras exibem efeitos neurotóxicos e hepatotóxicos, porém, até hoje a carcinogenicidade desses elementos em animais não foi ainda observada (Palasz e Czekaj, 2000).

Altos níveis de metais de terras raras foram detectados no cabelo a partir do couro cabeludo de crianças que vivem próximas à uma área de mineração na China (Tong et al., 2005).

Apesar dos elementos de terras raras não serem considerados essenciais ao ciclo de vida da célula e os efeitos benéficos na agricultura não terem sido claramente evidenciados, estes elementos são usados enriquecendo fertilizantes na China desde 1980 no solo e nas folhas das agriculturas. (Hu et al., 2004). Não existe ainda na literatura a incidência de intoxicação de humanos devido à ingestão de ETR's através da cadeia alimentar; no entanto, as preocupações estão aumentando no que diz respeito à contínua exposição de baixos níveis destes elementos em alimentos uma vez que é bem conhecido que plantas podem acumular tais elementos (Xu et al., 2002; Zhang e Shan, 2001).

Existem muitas razões para incluir as algas nos programas de monitoramento ambiental. Uma das mais importantes funções é que as algas contribuem substancialmente para a produção primária do ecossistema total na maioria dos habitats aquáticos. Devido ao pequeno tempo de resposta, as algas geralmente dão os primeiros sinais dos impactos do ecossistema, permitindo assim que ações corretivas sejam tomadas antes que impactos indesejáveis ocorram. Por isso, testes com algas são geralmente sensíveis, rápidos e de baixo custo. Por todas essas razões, elas são frequentemente usadas nos estudos ambientais e foram aplicadas em diferentes contextos, em materiais de teste de triagem para a presença de toxicidade, ou como parte importante das caracterizações de toxicidade de materiais teste. (Lin et al., 2005, Melo et al., 2006). Por tudo isso, no que diz respeito aos microrganismos, as algas costumam ser as primeiras a serem estudadas em estudos toxicológicos e são frequentemente usadas nos estudos ambientais para avaliar a toxicidade relativa de várias descargas químicas e/ou residuais.

Tai et al., 2010, estudaram o efeito dos elementos de terras raras sobre a microalga *Skeletonema costatum* e verificaram os valores do EC<sub>50</sub>(efeito da concentração do metal tóxico para a redução de 50% no crescimento das algas relativamente ao controle) entre 0 e 72h. Os dados revelaram que o valor do EC<sub>50</sub> foi de  $29,04 \pm 0,61$   $\mu\text{mol/L}$  para todos os lantanídeos. Os dados também revelaram que os valores de EC<sub>50</sub> nas taxas de crescimento da *S. costatum* não tiveram relação com a abundância dos lantanídeos individualmente. A toxicidade dos elementos lantanídeos sobre outras algas monocelulares, *Spirulina platensis*, *Chlorella autotrophica*, *Nitzschia clorteriu* e *Platymonas* spp. Também foi estudada e exibiu os mesmos resultados. Diante disso, os autores concluíram que os elementos lantanídeos podem ter os mesmos efeitos tóxicos em organismos unicelulares. No entanto, os diversos elementos lantanídeos, possuem diferentes toxicidades em organismos vivos superiores, tais como ratos, e sugerem que os organismos superiores envolvem reações tóxicas aos

lantanídeos de maior amplitude, colocando em questão o fato de que os organismos superiores são mais afetados por estes elementos.

Outros estudos mostraram que baixas concentrações de elementos de terras raras podem estimular o crescimento de fitoplâncton em diferentes extensões. Algumas pesquisas revelaram que baixas concentrações do lantânio têm uma grande estimulação no crescimento da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* Kütz (Qian et al., 2003), da alga verde *Selesnatrum capricornutum* Printz (Yin et al., 1998) e do dinoflagelado *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech (Xing et al., 2002). Entretanto, outros estudos revelaram que a estimulação em baixas concentrações de lantânio na *M. aeruginosa* (Zhou et al., 2003), *Chamydomonas reinhardtii* Dang (Shi and Zhao, 1987) e *Chlorella vulgaris* (Wang et al., 1996) foi menor. Por outro lado, alguns estudos não mostraram qualquer estimulação de crescimento pelos elementos de terras raras na *Chlorella ellipsoidea* Gren (Hu et al., 1996).

No estudo de Jin et al.(2009), os autores verificaram que em baixas concentrações de lantânio (menores que 7,2  $\mu\text{mol/L}$ ) não há estímulo do crescimento da *M. aeruginosa* e *S. quadricauda*, mas em altas concentrações de lantânio (maior que 72  $\mu\text{mol/L}$ ) há inibição do crescimento em ambos os microrganismos, sendo maior a inibição na *M. aeruginosa*.

## 1.5. Bioacumulação

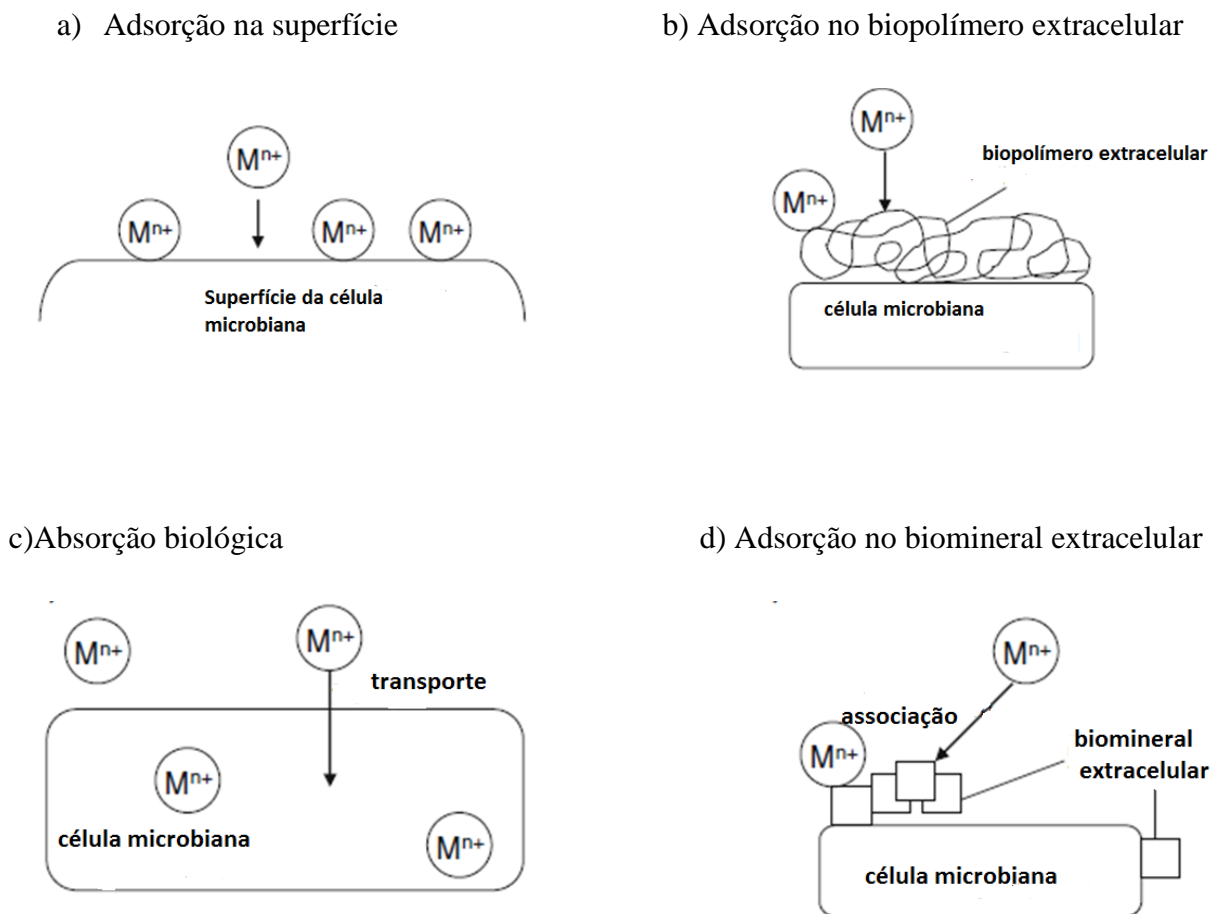
A principal diferença entre a bioissorção e a bioacumulação é que a bioissorção é um mecanismo de sorção de metais passivo que resulta na adsorção dos metais sobre a superfície das células vivas ou mortas. Já a bioacumulação é um processo de remoção dos metais ativo, dependente de energia e que ocorre durante o transporte dos metais através das membranas em células vivas (Volesky e Holan, 1995).

É essencial verificar a distribuição do metal adsorvido na superfície em relação ao metal acumulado dentro da célula, de forma a entender o mecanismo de remoção predominante a fim de tomar decisões sobre a viabilidade da recuperação dos metais adsorvidos (Olguín e Gálvan-Sánchez, 2012).



O processo de remoção dos íons de metais pesados usando microrganismos pode ser dividido em quatro categorias (a, b, c e d), como mostrado na figura 12, que apresenta as possibilidades de interação entre o metal e a superfície microbiana.

Figura 12 -Interação de íons de metais pesados com bactérias.



Fonte: Moriwakie Yamamoto, 2013.

Várias espécies microbianas podem produzir substâncias poliméricas extracelulares (EPS), que conduzem à formação de flocos devido à aglomeração das bactérias. Os EPSs promovem uma extensa área superficial por unidade de volume para a adsorção de íons metálicos pesados. Dessa forma, os EPSs podem proteger a bactéria no seu “habitat” porque eles facilitam a fixação do metal pesado em volta da célula ao invés de dentro delas (Moriwaki e Yamamoto, 2013).

A vantagem de se utilizar biomassa viva na remoção de metais é que ele cresce continuamente, podendo gerar novos materiais orgânicos para o sequestro de metais. Isto é especialmente útil na remoção de metais em sistema contínuo (Kalin et al., 2005).

A ficoremediação, uma tecnologia não convencional de tratamento de resíduos líquidos, utiliza microalgas, macroalgas e cianobactérias para remoção ou biotransformação de poluentes, incluindo nutrientes, xenobióticos de resíduos líquidos e CO<sub>2</sub> do ar. O sucesso da ficoremediação depende das características físico-químicas da superfície dos microrganismos fotossintéticos que podem favorecer o processo de bioadsorção e também das suas propriedades biológicas tais como os mecanismos de transporte de metais e a tolerância aos metais tóxicos que estão envolvidos nos processos de bioacumulação. Levando em consideração que na ficoremediação os microrganismos fotossintéticos são metabolicamente ativos, a captação do metal (q) e outros parâmetros para determinar a capacidade de sorção precisa ser calculada depois de se conduzir a diferenciação entre adsorção e acumulação intracelular (por exemplo, usando agentes dessorventes). Existe também a necessidade de especificar informações relacionadas ao mecanismo de captação e distribuição do metal em vários compartimentos da célula (adsorvido na superfície ou acumulado dentro da célula). Tais informações podem ser usadas para decidir se é possível recuperar, a partir da biomassa, uma boa quantidade de metal adsorvido na superfície por meio de agentes de dessorção (Olguín e Gálvan-Sánchez, 2012). O EDTA é o agente quelante mais comum usado para dessorver metais de forma a diferenciar a adsorção na superfície da célula da acumulação intracelular (Bates et al., 1982), enquanto que outras substâncias, tais como HCl e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, são frequentemente usadas para dessorver metais de biomassas secas.

Segundo Evans (1983), dada a importância de Ca<sup>2+</sup> no metabolismo celular e a eficiência com a qual ele é deslocado de forma competitiva pelos lantanídeos trivalentes, poderia-se prever eles teriam atividade biológica marcante. Embora seja verdade, a intervenção biológica pelos lantanídeos trivalentes é limitada pela sua incapacidade de penetrar normalmente na membrana celular de células vivas, embora facilmente entrar no citoplasma das células mortas. Dessa forma, os cátions trivalentes dos elementos de terras raras não podem entrar em células vivas com a ajuda de transporte dependente de energia ou por transporte passivo. Entretanto, dados da literatura revelam que há acumulação de metais de terras raras em algumas células vivas de diversos microrganismos.

O trabalho de Guo et al.(2000) foi realizado com células vivas livres e imobilizadas da alga verde *Euglena gracilis* 277 no estudo de bioacumulação dos íons neodímio trivalentes. Os autores observaram que as células livres preservaram menos neodímio dentro delas mas mantiveram uma alta densidade de metais em alguns esporos císticos nas suas superfícies. Não foram encontrados esporos ricos em neodímio nas células imobilizadas da alga. Entretanto, estas células puderam absorver muito mais neodímio nas quais foi homogeneamente distribuído. Verificaram que a bioacumulação do metal em células imobilizadas foi dez vezes mais eficiente que em células livres.

O transporte de íons metálicos tanto intracelular quanto extracelular é governado por uma combinação de processos biológicos, químicos, cinéticos e termodinâmicos (Siger, 1984). A membrana celular é a barreira inicial para a captação do íon metálico, mas alguns canais específicos e bombas na membrana provêm caminhos para os íons metálicos dentro ou fora da célula. Nos processos biológicos, os íons metálicos podem ser carreados e transferidos por muitos ligantes orgânicos diferentes, por exemplo, ácidos húmicos. Os ligantes carreadores são geralmente ligados em alguns grupos funcionais na superfície da célula ou dentro da célula. As atividades metabólicas de células vivas são responsáveis pela síntese de ligantes carreadores, bombas e canais iônicos. Alguns metais são essenciais para a divisão e crescimento microbiano, mas um excesso desses elementos pode ser tóxico. Seu equilíbrio é estabelecido pelo sistema imune celular. O excesso de íons metálicos pode ser excretado pelo metabolismo do microrganismo. Entretanto, a interrupção do sistema imune ocorre quando as atividades metabólicas são interrompidas pelo tratamento de imobilização. A acumulação de metal pelas células da alga fica então fora de controle. A eficiência de acumulação pela espécie de alga verde *Euglena gracilis* pode ser dez vezes maior se a atividade da alga for interrompida pela imobilização.

Shen et al.(2002) verificaram que a alga verde unicelular *Euglena gracilis* 277 demonstrou uma notável habilidade em transportar elementos de terras raras para os compartimentos celulares. Foi visto que tais células podem transportar cátions de lantanídeos contra um aparente gradiente de concentração. O raio de elementos de terras raras é muito próximo do raio do  $\text{Ca}^{2+}$ ; eles podem se ligar com algumas biomacromoléculas para formar compostos de coordenação e deslocar o  $\text{Ca}^{2+}$  em sítios ligantes nas proteínas. Também os elementos de terras raras podem substituir o Zn e o Fe.

Os resultados de Kang et al., 2000 também indicaram que bloqueadores de canais de cálcio, verapamil e nifedipina, inibiram a captação de Nd das células de algas. Os íons lantanídeos foram capazes de atravessar os canais de  $\text{Ca}^{2+}$  e que tanto a taxa de entrada, quanto a taxa de saída dos elementos de terras raras decresce com o raio atômico.

A acumulação de lantanídeos também foi estudada em diferentes cepas do fungo *Trichoderma* por d'Aquino et al. (2009). As observações da Microscopia de Transmissão Eletrônica (MTE) e as microanálises por raios-X das hifas e dos esporos de *T. harzianum* T22 crescendo em meio enriquecido de elementos de terras raras, mostraram a presença de muitas áreas eletrônicas densas com um alto conteúdo destes elementos na matriz externa do fungo, assim como no citoplasma, comparado ao controle. Esses achados sugeriram que a *Trichoderma* spp. removeu grandes quantidades de íons lantanídeos do meio de cultivo e que estes elementos estão parcialmente bloqueados na matriz externa do fungo. A matriz extracelular provavelmente age como uma barreira físico-química para os elementos no ambiente, prevenindo a captação celular dos elementos de terras raras e assim protegendo as estruturas de desenvolvimento do fungo a partir da exposição excessiva aos elementos, que são potencialmente tóxicos. Entretanto, a detecção dos elementos de terras raras no citoplasma do fungo indica que estes são capazes de atravessar a parede celular e a membrana celular de células vivas de *Trichoderma*. Este é o primeiro relato que demonstra que a captação dos elementos de terras raras em células de fungos e suporta os achados de que os elementos de terras raras podem ser absorvidos em células de plantas (Gao et al., 2003).

Muitos mecanismos foram descritos na associação do urânio com as algas como: a adsorção na superfície das células; adsorção à polissacarídeos extracelulares; captação dentro das células e incorporação nos vacúolos; incorporação em estruturas  $\text{CaCO}_3$  (aragonitas) associadas à algumas algas marinhas e de água doce; precipitação do urânio na superfície das células ou internamente (Kalin et al., 2005) e, portanto, torna-se importante a verificação do mecanismo de interação entre as microalgas verdes *Monoraphidium* sp. e *Scenedesmus* sp. com os ETR's.

No que diz respeito à captação intracelular ativa, sabe-se que algas e outras plantas aquáticas são conhecidas por bombear ativamente metais através de suas membranas celulares. Isto requer uma fonte de energia e está geralmente associada à fotossíntese e temperatura. Uma vez que muitos metais do meio ambiente são nutrientes essenciais, não é surpresa de que muitos são bombeados ativamente para dentro das células. O problema

aumenta quando a concentração externa do metal excede muito as necessidades da célula. Assim, os elementos que não são essenciais à célula podem imitar um metal que é essencial à ela e entrar, dessa forma, na célula. Com o urânio acontece isso e ele fica concentrado nos vacúolos e alguma vezes precipitado. Pribil e Marvam (1976) trabalharam com a *Scenedesmus* e descobriram que houve a acumulação de urânio. Mann e Fyfe (1984) encontraram cristais de urânio dentro de células de algas de *Spyrogyra* (Clorófita).

Apesar de haver alguns trabalhos na literatura sobre a bioacumulação dos elementos de terras raras em microrganismos diversos, tais como bactérias, fungos, leveduras, algas e cianobactérias, há muitas controvérsias quando aos mecanismos de captação e os locais exatos onde esses metais ficam de fato acumulados. Além disso, nenhum dado foi encontrado com relação à bioacumulação do lantânio ou outro lantanídeo pelas microalgas verdes *Scenedesmus* ou *Monoraphidium*.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Microalgas

As cepas dos dois gêneros de microalgas utilizadas neste estudo, *Monoraphidium* sp. e *Scenedesmus* sp. foram cedidas pelo banco de algas do Laboratório de Toxicologia de Cianobactérias do Departamento de Biofísica do CCS/UFRJ. As microalgas foram assim escolhidas por serem atóxicas, viáveis para o cultivo em laboratório e por apresentarem rápido crescimento celular. Estas microalgas pertencem ao Domínio *Eucarya* e são microrganismos unicelulares, fotossintetizantes e autotróficas. O quadro 1 apresenta a classificação das microalgas.

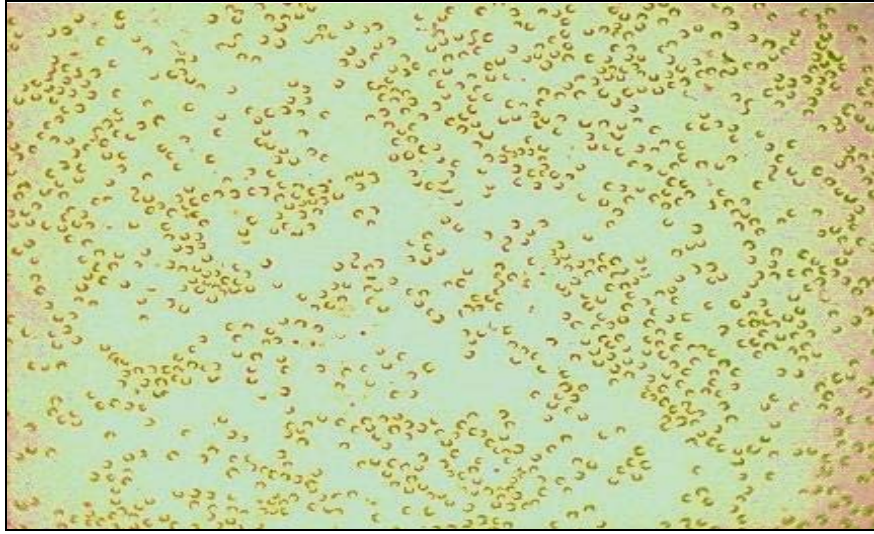
Quadro 1 - Classificação das microalgas.

	<i>Monoraphidium</i> sp.	<i>Scenedesmus</i> sp.
<b>Domínio</b>	<i>Eukarya</i>	<i>Eukarya</i>
<b>Filo</b>	<i>Chlorophyta</i>	<i>Chlorophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Chlorophyceae</i>	<i>Chlorophyceae</i>
<b>Ordem</b>	<i>Sphaeropleales</i>	<i>Sphaeropleales</i>
<b>Família</b>	<i>Selenastraceae</i>	<i>Scenedesmaceae</i>
<b>Gênero</b>	<i>Monoraphidium</i>	<i>Scenedesmus</i>

Fonte: AlgaeBase, 2014.

Os registros dos gêneros das microalgas estudadas foram obtidos a partir da fotomicrografia em microscópio óptico (Microscópio de Epifluorescência Axioskop 40, CarlZeiss acoplado com a câmara Axiocammrc5). As microalgas apresentavam 20 dias de cultivo (figuras 13 e 14).

Figura 13 - Fotomicrografia da *Monoraphidium* sp. (aumento de 400x).



Fonte: O autor, 2013.

Figura 14 -Fotomicrografia de *Scenedesmus* sp. (aumento de 400x).



Fonte: O autor, 2013.

## 2.2 Cultivo e manutenção das células

Para que as células fossem mantidas viáveis e metabolicamente ativas, inoculou-se, em condições assépticas e sob câmara de fluxo laminar, 10 mL da matriz da suspensão das microalgas em 100 mL de meio de cultura ASM-1 (Tabela 3) que estava acondicionado em frasco Erlenmeyer de 250 mL. Este frasco foi vedado com tampão de algodão envolto em gaze para permitir a troca gasosa (Gorhan *et al.*, 1964). Antes da inoculação, o meio de cultura foi previamente esterilizado em autoclave vertical (Phoenix, AV 75), a 121°C, sob pressão de 1 atm durante 20 minutos e teve o pH ajustado para 8,0, ideal para o crescimento das microalgas estudadas. Para o ajuste do pH foi utilizada solução de NaOH 1 mol.L<sup>-1</sup>. O pH foi medido no instrumento digital (Phtek, PHS-3B). Depois de ser retirado da autoclave, o meio de cultura foi conservado em geladeira até o momento da utilização.

Em intervalos regulares de 20 dias, repiques eram efetuados procedendo-se da mesma forma como foi realizado com a matriz. Usando-se seringas graduadas novas e estéreis, alíquotas de 10 mL da biomassa em suspensão eram adicionadas a 100 mL de meio ASM-1 previamente esterilizado e acondicionado em frasco Erlenmeyer de 250 mL, sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar, permitindo assim a manutenção das células metabolicamente ativas e viáveis para os experimentos posteriores (Figura 15). O cultivo das microalgas foi efetuado na Câmara de Germinação da marca Fanem modelo 347-CDG, onde estas eram submetidas a ciclos de 12/12h claro/escuro (claridade obtida por quatro lâmpadas fluorescentes de 20 W) sob temperatura de 23°C (Figura 16).



Figura 15 - Frascos de erlenmeyer contendo os cultivos, de 22 dias, das microalgas



Fonte: O autor, 2013.

Figura 16 – Câmara de Germinação com os cultivos das microalgas.



Fonte: O autor, 2013.

Tabela 3 - Meio ASM-1 usado na manutenção das microalgas verdes.

Solução estoque	Massa (g)	Observações
A		Completo-se o volume para 200 mL em balão volumétrico com água destilada.
NaNO <sub>3</sub>	1,70	
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,41	
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,49	
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,29	
B		Completo-se o volume para 100 mL em balão volumétrico com água destilada.
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ou	0,87	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	1,14	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ou	1,78	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1,33	
C		Completo-se o volume para 100 mL em balão volumétrico com água destilada.
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,48	
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,39	
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	1,08	
ZnCl <sub>2</sub>	0,335	
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,019	
CuCl <sub>2</sub>	0,0014	
D		Completo-se o volume para 100 mL em balão volumétrico com água destilada.
Na <sub>2</sub> EDTA	1,86	
Para 1 litro do meio de cultura: adicionou-se 20 mL da solução estoque A; 2,0mL da solução estoque B; 0,1 mL da solução estoque C e 0,4 mL da solução estoque D. Ajustou-se o pH da solução para 8,0 (com NaOH 1mol.L <sup>-1</sup> ) e completo-se o volume para 1000 mL com água destilada.		

Fonte: Gorhan *et al.*, 1964

### 2.3. Massa seca

O crescimento das biomassas foi acompanhado através de medidas periódicas da massa seca das espécies em cultivo utilizadas dessa forma como método de quantificação.

Foram medidos as massas de 10 cadinhos de porcelana iguais (Chiarotti, M-34), previamente limpos e secos em estufa por 24h a 105°C, na balança analítica (Mettler Toledo, AL 204). Em seguida, 20 mL da suspensão microbiana, sob cultivo, foi adicionado a cada cadinho vazio onde permaneciam por mais 24h para secar. Após esse tempo, mediam-se novamente os cadinhos com a biomassa seca, obtendo-se, por diferença, a massa seca das células em diversos tempos de crescimento.

$$\text{Massa seca da microalga (g)} = \text{Massa do cadinho cheio (g)} - \text{Massa do cadinho vazio (g)}$$

Dessa forma foram obtidas as massas secas para 2, 7, 15, 18, 19, 20, 30, 35 e 52 dias de cultivo. Posteriormente, foram construídas as curvas de crescimento da concentração celular *versus* tempo de cultivo para as microalgas *Monoraphidium* sp. e *Scenedesmus* sp.

As curvas de crescimento foram utilizadas para se determinar a fase exponencial de crescimento das biomassas que, posteriormente, foram utilizadas nos experimentos de bioissorção, toxicidade e bioacumulação, assim como a fase estacionária do crescimento.

Cabe ressaltar que não foi realizada a lavagem das células para se realizar os procedimentos de quantificação na determinação da massa seca.

### 2.4. Metais de terras raras

Os metais de terras raras utilizados nos experimentos realizados foram o lantânio (para os ensaios de toxicidade, bioacumulação e bioissorção) e o cério (para os ensaios de bioissorção). Para tal, utilizaram-se os sais cloreto de lantânio heptahidratado ( $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) da VETEC (Massa Molar = 371,37g/mol) e nitrato de cério hexahidratado ( $\text{CeNO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) da VETEC (Massa Molar = 434,23g/mol).

## 2.5. Estudo da toxicidade

Foi realizado um experimento de toxicidade para avaliar o crescimento das microalgas no meio de cultura, ASM-1, previamente contaminado com lantânio e comparado com o crescimento das microalgas em meio ASM-1, isento de lantânio.

### 2.5.1 Preparo das soluções

Foram preparadas soluções contaminadas com diferentes concentrações de  $\text{La}^{3+}$ . Dessa forma, foram dissolvidas diferentes quantidades de cloreto de lantânio ( $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) em meio ASM-1, de modo a se obter meios contaminados em baixas e em altas concentrações. As concentrações utilizadas foram de  $10\text{mg.L}^{-1}$  ( $0,072\text{ mmol.L}^{-1}$ ),  $25\text{mg.L}^{-1}$  ( $0,180\text{ mmol.L}^{-1}$ ),  $50\text{mg.L}^{-1}$  ( $0,360\text{ mmol.L}^{-1}$ ) e  $100\text{mg.L}^{-1}$  ( $0,720\text{ mmol.L}^{-1}$ ) de  $\text{La}^{3+}$ , conforme mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 - Preparo dos meios de cultura ASM-1 contaminados com  $\text{La}^{3+}$ .

<b>Concentração de <math>\text{La}^{3+}</math> no meio ASM-1 (<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b>	<b>Massa de <math>\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math> utilizada (g)</b>	<b>Volume do meio de cultura contaminado (L)</b>
10	0,0267	1
25	0,0668	1
50	0,1336	1
100	0,2672	1

Fonte: O autor, 2013.

### 2.5.2 Cultivos das microalgas nas soluções contaminadas com lantânio.

Em frasco Erlenmeyer de 2000 mL contendo 1000 mL de meio de cultura contaminado, previamente esterilizado em autoclave, inoculou-se 100 mL de suspensão microbiana. Este permaneceu sob cultivo em câmara de germinação por quatro semanas. A cada 7 dias, medidas da massa seca, em triplicata (com alíquotas de 10 mL), eram efetuadas para se acompanhar o crescimento celular e verificar assim a interferência do íon metálico em solução sobre o metabolismo das espécies estudadas. Além disso, registros macroscópicos, obtidos através da observação da cor apresentadas pelas soluções foram efetuados ao longo das quatro semanas analisadas, através de fotografias. Ao fim do experimento, a análise microscópica das células das microalgas foi feita, em microscópio óptico, para cada concentração de solução contaminada com lantânio, avaliando-se, dessa forma, a morfologia das células após esse tempo de cultivo na presença de lantânio.

## **2.6. Estudo de bioacumulação**

A razão pelo qual se continuou trabalhando com as quatro concentrações já citadas do meio ASM-1 contaminado com lantânio deveu-se ao fato de que houve viabilidade celular nestas concentrações. Apesar de ser diferenciada para os dois gêneros ao longo da primeira semana, tanto na solução mais diluída ( $10 \text{ mg.L}^{-1} \text{ La}^{3+}$ ) testada quanto na mais concentrada ( $100 \text{ mg.L}^{-1} \text{ de La}^{3+}$ ). Dessa forma, o ensaio foi realizado para se verificar a capacidade da microalga na remover do íon metálico estudado através da bioacumulação.

### 2.6.1 Preparo das soluções

Foram preparadas soluções de meio ASM-1 contaminado com  $\text{La}^{3+}$  nas seguintes concentrações segundo a tabela abaixo (Tabela 5).

Tabela 5 - Preparo das soluções de meio ASM-1 contaminado com  $\text{La}^{3+}$  para o ensaio de bioacumulação

<b>Concentração de <math>\text{La}^{3+}</math> no meio ASM-1 (<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b>	<b>Massa de <math>\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math> (g)</b>	<b>Volume do meio de cultura contaminado (L)</b>	<b>pH das soluções</b>
10	0,0080	0,30	5,1
25	0,0200	0,30	5,1
50	0,0401	0,30	5,2
100	0,0802	0,30	5,0

Fonte: O autor, 2013.

O meio ASM-1 isento de lantânio teve o seu pH ajustado para 5,0 a fim de que as microalgas utilizadas fossem cultivadas sob as mesmas condições de acidez.

Esterilizou-se 100 mL de cada meio, contaminado e também o não contaminado, em autoclave por 20 min a  $120^\circ\text{C}/1$  atm, em frascos Erlenmeyer de 250 mL. De todos os meios contaminados foi retirado um volume de 15 mL, acondicionado em tubo Falcon, para a quantificação de  $\text{La}^{3+}$  no meio, obtendo-se assim a massa de  $\text{La}^{3+}$  presente no meio de cultura.

As quantificações de  $\text{La}^{3+}$ , que se deram antes e depois do cultivo de sete dias, foram realizadas no espectrômetro de emissão ótica por plasma indutivamente acoplado ICP-OES (Quimis, Q216-11EX, Brasil), e os resultados foram expressos com nível de confiança de 95%.

### 2.6.2 Inoculação e cultivo das microalgas

Em 100 mL de cada meio contaminado, inoculou-se 10 mL de cultura, sob câmara de fluxo laminar. Repetiu-se o procedimento para 100 mL do meio de cultura ASM-1 isento de lantânio. Devidamente vedados com rolhas de algodão envoltas em gaze, os frascos Erlenmeyer foram conduzidos à câmara de germinação onde permaneceram por 7 dias sob cultivo.

### 2.6.3 Filtração das culturas

Após 7 dias, as culturas contendo meio ASM-1 contaminados com lantânio foram filtradas em funil analítico, utilizando-se como meio filtrante papel de filtro Melita®(Figura 17) e os filtrados foram acondicionados em tubos Falcon para serem encaminhados para a determinação do  $\text{La}^{3+}$  residual. Em cada tubo Falcon contendo os filtrados foi adicionada 1 gota de ácido nítrico 65% PA, a fim de se manter a solução estável por mais tempo e garantir o metal predominantemente na sua forma ionizada,  $\text{La}^{3+}$  (Bertuol, 2007).

Figura 17 - Unidade de Filtração.



Fonte: O autor, 2013.

## 2.7 Estudos de Biossorção

Os experimentos de biossorção foram realizados em batelada para os dois gêneros de microalgas estudadas. Nestes experimentos, foram realizados estudos sobre a cinética e sobre o equilíbrio de biossorção das espécies biossorbentes, neste caso, usando-se culturas das microalgas *Monoraphidium* sp. e *Scenedesmus* sp. livres. Os experimentos foram todos realizados em triplicata.

### 2.7.1. Experimentos cinéticos da biossorção

O estudo da cinética teve como objetivo verificar o tempo necessário para que houvesse o equilíbrio entre o íon metálico presente em solução e na superfície da biomassa adsorvente. Para tais experimentos, utilizaram-se soluções de lantânio (III), soluções de cério (III) e misturas binárias de soluções de cério (III) e lantânio (III).

A tabela 6 apresenta as quantidades de sais utilizados no preparo das soluções, os volumes preparados e os valores de pH das soluções.

Tabela 6 - Quantidades de sais utilizados no preparo das soluções dos íons metálicos.

Concentração das soluções	Massa do sal (g)		Volume (L)	pH da solução
	LaCl <sub>3</sub> .7H <sub>2</sub> O	Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O		
10 mg.L <sup>-1</sup> La <sup>3+</sup>	0,0534	-	2,0	5,0
100 mg.L <sup>-1</sup> La <sup>3+</sup>	0,5343	-	2,0	5,0
10mg.L <sup>-1</sup> Ce <sup>3+</sup>	-	0,0620	2,0	4,9
100mg.L <sup>-1</sup> Ce <sup>3+</sup>	-	0,6198	2,0	4,9
10mg.L <sup>-1</sup> La <sup>3+</sup> e 10mg.L <sup>-1</sup> Ce <sup>3+</sup>	0,0534	0,0620	2,0	4,5
100mg.L <sup>-1</sup> La <sup>3+</sup> e 100mg.L <sup>-1</sup> Ce <sup>3+</sup>	0,5343	0,6198	2,0	4,3

Fonte: O autor, 2013.



Todas as soluções foram preparadas em balão volumétrico de vidro Pyrex, classe A, nas devidas concentrações, conforme especificadas na Tabela 6. Para tanto, dissolveu-se a massa do sal em água destilada, transferiu-se quantitativamente para o balão volumétrico e completou-se o volume com água destilada para 2,0 L. O pH das soluções foi ajustado (quando necessário) no medidor de pH digital (PHS-3B, Phtek) de modo a se garantir a predominância do íon  $\text{La}^{3+}$  em solução. De cada solução preparada, uma alíquota de 15 mL foi colocada em tubo Falcon para determinação da concentração de lantânio, conforme descrito no item 2.6.1.

Foram utilizados frascos de polietileno de baixa densidade, de 500 mL, para se conduzir o experimento cinético de biossorção. Em cada garrafa, adicionou-se 50 mL de solução metálica mais diluída ( $10 \text{ mg.L}^{-1}$  do íon metálico) e 1 mL da cultura de microalga. Esse volume de cultura foi adicionado utilizando-se seringas graduadas estéreis. As garrafas foram devidamente rotuladas com o tipo de gênero utilizado, o tempo de contato e a concentração da solução metálica.

As garrafas, em triplicata, foram então colocadas no agitador rotatório (Figura 18) com temperatura previamente estabilizada em  $30^\circ\text{C}$ , onde permaneceram sob agitação de 100 rpm. Este experimento foi realizado nos seguintes tempos de contato entre a microalga e o íon metálico em solução: 1, 2, 5, 10, 15 e 30 minutos. O procedimento foi repetido com a solução mais concentrada de lantânio (III),  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Figura 18 - Mesa rotatória contendo as garrafas utilizadas nos experimentos cinéticos.



Fonte: O autor, 2013.

O tempo de cultivo das culturas dos dois gêneros de microalgas utilizadas no experimento cinético são mostrados na tabela abaixo (Tabela 7).

Tabela 7 - Tempos de cultivo das microalgas verdes *Monoraphidium* sp. e *Scenedesmus* sp. utilizadas nos experimentos cinéticos de bioissorção.

Soluções dos íons metálicos	Tempo de Cultivo (dias)	
	<i>Monoraphidium</i> sp.	<i>Scenedesmus</i> sp.
10 mg.L <sup>-1</sup> La <sup>3+</sup>	20	20
100 mg.L <sup>-1</sup> La <sup>3+</sup>	15	15
10 mg.L <sup>-1</sup> Ce <sup>3+</sup>	20	20
100 mg.L <sup>-1</sup> Ce <sup>3+</sup>	20	20
10mg.L <sup>-1</sup> La <sup>3+</sup> e 10 mg.L <sup>-1</sup> Ce <sup>3+</sup>	18	18
100 mg.L <sup>-1</sup> La <sup>3+</sup> e 100 mg.L <sup>-1</sup> Ce <sup>3+</sup>	18	18

Fonte: O autor, 2013.

Após a finalização do experimento, as garrafas eram removidas do agitador rotatório e o conteúdo era filtrado em funil analítico contendo papel de filtro Melita®. Os filtrados eram recolhidos em tubo Falcon de 15 mL, onde era adicionado 1 gota de solução de ácido nítrico 65% PA para a preservação da solução. Posteriormente, foi feita a determinação do íon metálico residual em cada solução. Retirou-se uma alíquota de 15 mL de cada solução e transferiu-se para tubo Falcon para a determinação da concentração de lantânio, conforme descrito no item 2.6.1.

### 2.7.2. Experimentos de equilíbrio da biossorção

O estudo de equilíbrio foi realizado de modo a se obter a capacidade de captação máxima da microalga verde pelo íon metálico. Utilizaram-se diferentes concentrações do íon metálico e o tempo utilizado para o experimento foi aquele obtido a partir do estudo cinético. Os experimentos de equilíbrio foram realizados com soluções de  $\text{La}^{3+}$ , soluções de  $\text{Ce}^{3+}$  e misturas binárias de  $\text{La}^{3+}$  e  $\text{Ce}^{3+}$  para os dois gêneros de microalgas utilizados nos experimentos.

Foram preparadas 1 litro de uma solução mãe de  $\text{La}^{3+}$ , 1 litro de uma solução mãe de  $\text{Ce}^{3+}$  e de uma solução mãe de  $\text{La}^{3+}$  e  $\text{Ce}^{3+}$  todos com concentração de  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$ , medindo-se as seguintes quantidades de sais, conforme especificado na Tabela 8.

Tabela 8 - Quantidades dos sais cloreto de lantânio heptahidratado e de nitrato de cério hexahidratado pesadas.

Concentrações das soluções- mãe	Massas dos sais (g)	
	$\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
$1000 \text{ mg.L}^{-1} \text{La}^{3+}$	2,6717	-
$1000 \text{ mg.L}^{-1} \text{Ce}^{3+}$	-	3,0991
$1000 \text{ mg.L}^{-1} \text{La}^{3+} \text{ e } \text{Ce}^{3+}$	2,6717	3,0991

Fonte: O autor, 2013.

As soluções foram preparadas dissolvendo-se o sal em água destilada e transferindo-se quantitativamente para balão volumétrico Pyrex, classe A de um litro.

A partir dessa solução mãe, foram feitas diluições de modo a se obter as soluções de 10, 25, 50, 100, 250 e 500 mg/L de  $\text{La}^{3+}$ , de  $\text{Ce}^{3+}$  e de  $\text{La}^{3+}$  e  $\text{Ce}^{3+}$  para a realização do experimento de equilíbrio. Os valores de pH das soluções foi medido e, quando necessário foram ajustados para abaixo de 5,0 (utilizando solução de  $\text{HCl}$   $1\text{mol.L}^{-1}$ ). Os pHs das soluções ficaram entre 4,5 e 5,0 garantindo a predominância do íon metálico em solução. Alíquotas de 15 mL das soluções foram retiradas para determinação da concentração dos íons metálicos por ICP-OES.

De cada solução diluída foi retirada uma alíquota de 50 mL da solução de  $\text{La}^{3+}$  e transferiu-se para um frasco de polietileno de baixa densidade, em seguida adicionou-se 1 mL de cultura de microalgas usando seringas estéreis. Os frascos contendo as soluções foram colocados no agitador rotatório e mantidos sob agitação de 100 rpm, por 90 minutos, a  $30^{\circ}\text{C}$ . Ao final do experimento, as soluções foram filtradas em funil analítico equipado com papel de filtro Melita®.

O filtrado foi recolhido em tubo Falcon de 15 mL e, posteriormente encaminhado para determinação do  $\text{La}^{3+}$  residual por ICP-OES. No filtrado adicionou-se uma gota de ácido nítrico 65% de modo a preservar a solução. Repetiu-se o experimento para as soluções individuais de  $\text{Ce}^{3+}$  e para as misturas binárias de  $\text{La}^{3+}$  e  $\text{Ce}^{3+}$ .

A Tabela 9 apresenta os tempos de cultivo para os dois gêneros de microalgas utilizadas.

Tabela 9 - Tempos de cultivo da *Monoraphidium* sp. e *Scenedesmus* sp. utilizadas nos experimentos de equilíbrio.

Experimento	Tempo de Cultivo (dias)	
	<i>Monoraphidium</i>	<i>Scenedesmus</i>
Equilíbrio utilizando soluções de $\text{La}^{+3}$	18	19
Equilíbrio utilizando soluções de $\text{Ce}^{+3}$	20	20
Equilíbrio utilizando soluções de $\text{La}^{+3}$ e $\text{Ce}^{+3}$	20	20

Fonte: O autor, 2013.

## 2.8. Caracterização analítica dos processos em batelada

Aplicaram-se modelos matemáticos aos dados obtidos de forma a se predizer o tempo de contato e avaliar a capacidade de remoção do íon metálico pela biomassa utilizada nos experimentos de cinética e de equilíbrio de biossorção, respectivamente. Foram utilizados como ferramentas de diagnóstico dos modelos o gráfico dos resíduos e o coeficiente de determinação, o qual fornece a fração da variação explicada pelo modelo. Para isto, foi utilizado o programa OriginPro versão 8, Informer Technologies, USA.

### 2.8.1. Processo de Biossorção

A quantidade de lantânio adsorvido por unidade de biomassa livre foi calculada a partir da equação abaixo (Equação 1).

$$q_t = \frac{(C_o - C_t) \times V}{w \times 1000} \quad \text{Equação 1}$$

onde,  $q_t$  é a quantidade do metal retido no biossorvente no tempo  $t$  (mg  $\text{La}^{3+}$ /g de sorvente);  $C_o$  é a concentração do(s) metal(is) inicial da solução (em  $\text{mg.L}^{-1}$ );  $C_t$  é a concentração do(s) metal(is) residual(is) no tempo  $t$  (em  $\text{mg.L}^{-1}$ );  $V$  é o volume de solução de lantânio empregado no experimento (em mL) e  $w$  é a massa de biossorvente utilizada (em g).

### 2.8.2. Modelos Cinéticos

Os estudos de cinética constituem o primeiro passo para compreender o processo de biossorção. A cinética descreve a velocidade de remoção com que o metal é removido da solução, que por sua vez controla o tempo de residência para acumulação do metal na

interface sólido-líquido. Assim, é possível prever a velocidade com que o metal é removido da solução. De forma a investigar o mecanismo de biossorção obtido a partir dos dados experimentais em batelada, foram utilizados modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e de segunda ordem.

### 2.8.2.1 Modelo de Pseudo-primeira ordem ou de Lagergren

O modelo de pseudo-primeira ordem, ou modelo de Lagergren, assume na sua forma linearizada, a equação 2:

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1}{2,303} \times t \quad \text{Equação 2}$$

onde,  $q_e$  ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) é a quantidade do metal retido na biomassa no equilíbrio (obtido graficamente) e  $k_1$  ( $\text{min}^{-1}$ ) é a constante de velocidade da reação de pseudo-primeira ordem.

Na construção do gráfico  $t$  versus  $\log(q_e - q_t)$ , a obtenção de uma linha reta sugere a possível aplicação deste modelo cinético. Usando-se os coeficientes angular e linear da equação da linha reta, podem ser obtidos os valores dos parâmetros  $k_1$  e  $q_e$ , respectivamente.

### 2.8.2.2 Modelo de Segunda Ordem

O modelo cinético de segunda ordem baseia-se na capacidade de acumulação potencial de um sorvente. O modelo é dado pela seguinte equação linearizada (Equação 3):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 \times q_e^2} + \frac{1}{q_e} \times t \quad \text{Equação 3}$$

onde,  $k_2$  ( $\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) é a constante de velocidade da reação do modelo de segunda ordem.

Com a construção da curva  $t$  versus  $t/q_t$ , pode-se obter os parâmetros  $q_e$  e  $k_2$  através dos coeficientes angular e linear, respectivamente. O processo corresponderá a uma cinética de segunda ordem se os dados experimentais colocados no gráfico estiverem dispersos sobre uma reta, gerando um coeficiente de determinação ( $r^2$ ) próximo de 1.

### 2.8.3. Modelos de Equilíbrio

Modelos de equilíbrio são úteis para se analisar quantitativamente a biossorção. Para tal utilizam-se as isotermas de adsorção. Dessa forma uma análise quantitativa foi realizada para todos os sistemas estudados, utilizando células livres de *Scenedesmus* sp. e *Monoraphidium* sp. com soluções de lantânio, com solução de cério e com soluções binárias de lantânio e cério. Assim, foram construídas isotermas de adsorção a partir dos dados experimentais obtidos. Estes dados foram modelados pelas equações de Langmuir e Freundlich, que são os modelos mais largamente usados em biossorção (Cruz *et al.*, 2004).

A equação linearizada da isoterma de Langmuir, equação 4, (Aksu, 2001) revela que:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{max}} + \frac{1}{q_{max} \times k_L} \times \frac{1}{C_e} \quad \text{Equação 4}$$

De modo que  $q_{max}$  ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) expressa a quantidade máxima de metal sorvido pela biomassa de forma a se obter uma monocamada completa na superfície do biossorvente.  $k_L$  é uma constante prevista pelo modelo de Langmuir que sinaliza a afinidade dos sítios ligantes do biossorvente pelo metal e  $C_e$  ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) corresponde a concentração do íon metálico no equilíbrio.

Com os dados experimentais modelados pela equação 4, pode-se construir uma curva  $1/C_e$  versus  $1/q_e$  de forma a se obter, pelos coeficientes linear e angular da equação da reta, os valores de  $q_{\max}$  e de  $k_L$ , respectivamente.

O modelo de Freundlich, que prevê a adsorção do metal sobre a superfície da biomassa em policamadas, é representado pela equação 5 linearizada:

$$\log q_e = \log k_F + \frac{1}{n} \times \log C_e \quad \text{Equação 5}$$

De forma que  $k_F$  e  $n$  são constantes de Freundlich que expressam a capacidade de adsorção do metal e a intensidade de adsorção, respectivamente. A construção da curva  $\log q_e$  versus  $\log C_e$  gera uma equação de reta cujos coeficientes linear e angular indicam os valores dos parâmetros  $k_F$  e  $n$ , respectivamente. A comparação dos modelos das isotermas de adsorção foi feita através das ferramentas de diagnóstico citadas no item 2.8.

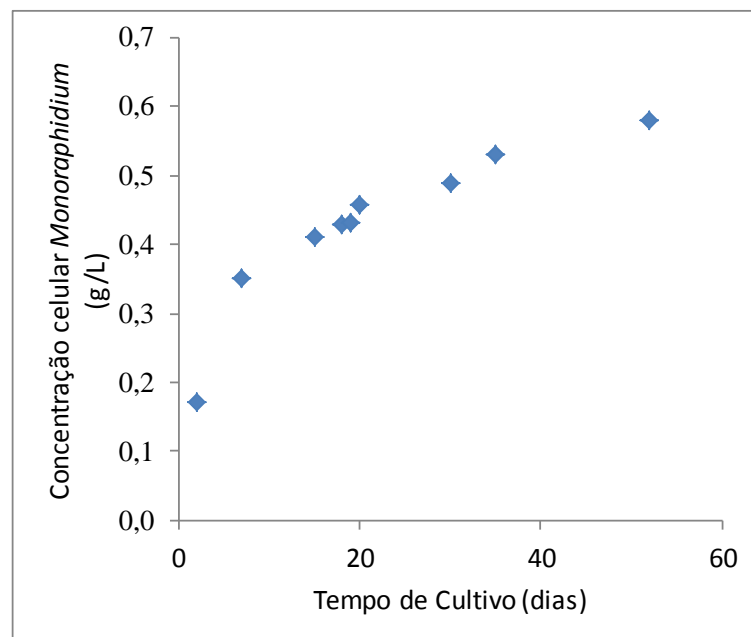


### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Cultivo das microalgas verdes *Scenedesmus* sp. e *Monoraphidium* sp.

A Figura 19 apresenta a curva de crescimento da microalga *Monoraphidium* sp.. Verifica-se que o crescimento celular ocorreu na ausência de fase lag, uma vez que a cultura já havia sido repicada a partir de uma suspensão microbiana a qual já se apresentava bem adaptada às condições de cultivo utilizadas. O crescimento celular apresentou um perfil crescente até o vigésimo dia de cultivo e, a partir de então, ocorreu uma estabilização da taxa de crescimento da microalga. A fase estacionária começou a ser atingida por volta do vigésimo dia, refletindo-se na redução da taxa de concentração celular. Dessa forma, a concentração celular máxima atingida, após 52 dias de cultivo, ficou próximo de  $0,6 \text{ g.L}^{-1}$ .

Figura 19 - Curva de crescimento da microalga verde *Monoraphidium* sp.



Fonte: O autor, 2013.

A figura 20 apresenta a fotomicrografia das células da microalga verde *Monoraphidium* proveniente do cultivo feito em laboratório e a figura 21 apresenta a fotomicrografia das células da *Monoraphidium* sp. utilizadas neste trabalho.

O gênero *Monoraphidium* sp. faz parte do grupo das microalgas verdes que medem de 1,5 a 5  $\mu\text{m}$  de comprimento e possuem corpo celular alongado em formato reto ou curvilíneo. Há diferença entre as espécies, que podem se apresentar como unicelulares ou em colônias denúmero de células variável. A espécie de *Monoraphidium* utilizada no presente trabalho apresentou-se sob a forma unicelular e o corpo celular na forma curvilíneo.

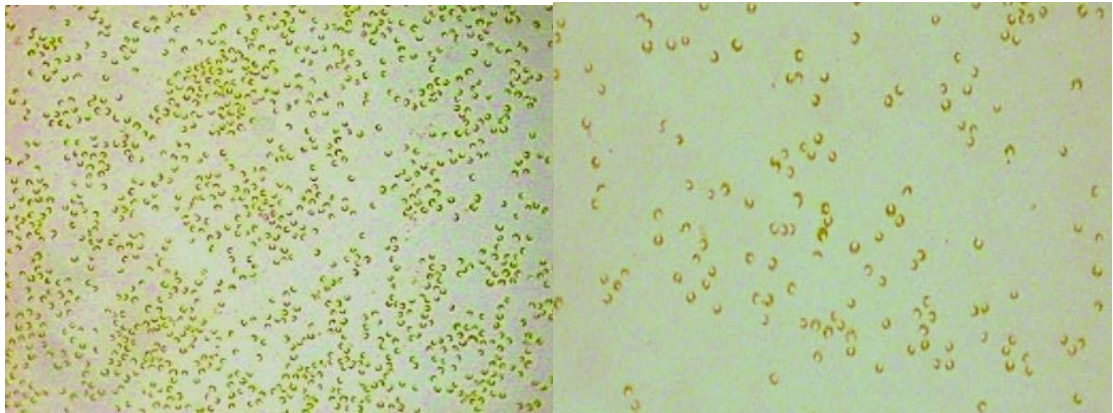
Wu *et al.* (2013) estudaram os efeitos de diferentes fontes de nitrogênio e temperaturas sobre o crescimento celular de microalgas verdes do gênero *Monoraphidium* sp. linhagem SB2. Neste estudo, as microalgas foram cultivadas em um fotobioreator, em regime de batelada, aerado com ar sob taxa de fluxo constante. As amostras foram retiradas diariamente durante um período de 7 dias para medira concentração da biomassa, a qual foi relacionada à absorvância por meio de uma equação de primeiro grau. Verificou-se que a microalga cresceu melhor na faixa de temperatura de 25-30  $^{\circ}\text{C}$ , com produção de biomassa em torno de 0,577  $\text{g.L}^{-1}$  ao longo dos 7 dias de cultivo. Com relação aos diferentes tipos de fontes de nitrogênio adicionados ao meio de cultura, verificou-se que o meio de cultura contendo a solução de  $\text{KNO}_3$  3,6  $\text{mmol.L}^{-1}$  apresentou maior crescimento celular após de 7 dias de cultivo (0,650  $\text{g.L}^{-1}$ ) do que o meio contendo a solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1,8  $\text{mmol.L}^{-1}$  (0,112  $\text{g.L}^{-1}$ ).

Figura 20 - Fotomicrografia da microalga  
*Monoraphidium*.sp.



Fonte: AlgaeResourceDatabase, 2014.

Figura 21 - Fotomicrografia da microalga *Monoraphidium* sp utilizada neste trabalho.  
(Microscópio óptico, aumento de 400x)



Fonte: O autor, 2013.

No presente trabalho, utilizou-se como fonte de nitrogênio a solução de  $\text{NaNO}_3$  0,0020  $\text{mmol.L}^{-1}$ , presente no meio ASM-1 empregado, temperatura de  $25^\circ\text{C}$  sem suprimento de ar externo, somente com agitação manual do frasco Erlenmeyer pelo menos uma vez ao dia. Verificou-se que após 7 dias de cultivo, a análise gravimétrica de quantificação de massa seca revelou que a concentração celular atingida ficou em torno de  $0,35 \text{ g.L}^{-1}$ , o que pode ser então considerado um bom crescimento diante das condições de cultivo utilizadas.

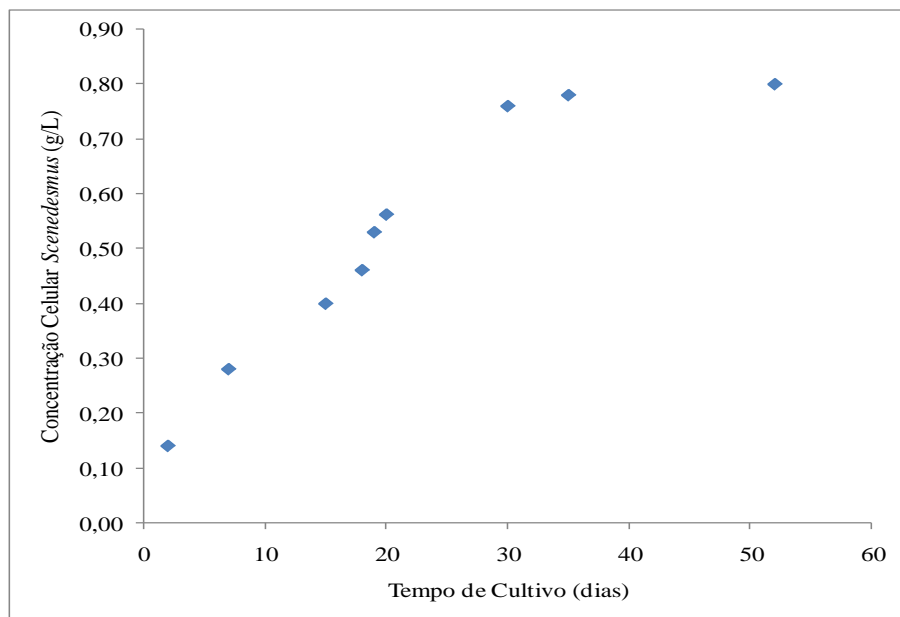
Yu *et al.* (2012), também mediram o crescimento da microalga verde *Monoraphidium* sp. linhagem FXY-10 sob condições autotróficas e heterotróficas. Para as condições heterotróficas foi adicionada glicose ao meio, enquanto que a cultura autotrófica foi isenta de glicose. As algas foram submetidas à centrifugação após o cultivo e, posteriormente secas em *freeze dryer* por 24h. Os *pellets* tiveram as suas massas medidas e considerados como massa seca da biomassa. O estudo constatou que sob condições autotróficas a taxa de crescimento foi muito menor ( $0,15 \text{ d}^{-1}$ ) do que em condições heterotróficas ( $0,52 \text{ d}^{-1}$ ). Segundo os autores, isto se deve à dificuldade da penetração da luz devido ao crescimento das células, pois a penetração da luz no crescimento autotrófico é inversamente proporcional à concentração celular. Observou-se também que a fase estacionária foi atingida após 16 dias de cultivo.

A figura 22 apresenta a curva de crescimento do outro gênero de microalga verde, a *Scenedesmus* sp., também estudada neste trabalho. Verificou-se que o crescimento da microalga ocorreu de forma sempre crescente, exponencialmente até o vigésimo segundo dia e na ausência de fase lag. A curva de crescimento apresentada na figura 22 também revelou, claramente, um maior crescimento celular para o mesmo tempo de cultivo que a

*Monoraphidium* sp. O máximo crescimento atingido pela *Scenedesmus* sp. foi próximo de 0,8 g.L<sup>-1</sup>. A microalga apresentou taxa de crescimento alta até o vigésimo quinto dia e, após o trigésimo dia, atingiu-se a fase estacionária do crescimento.

As figuras 23 e 24 apresentam as fotomicrografias das células da microalga verde *Scenedesmus* proveniente do cultivo e da *Scenedesmus* sp. utilizadas no presente trabalho, respectivamente. As células das microalgas do gênero *Scenedesmus* medem em torno de 15 µm de comprimento por 4 µm de largura. Suas células apresentam-se sob a forma de colônias de quatro células unidas lado a lado. São algas verdes, tubulares e imóveis. As células são elipsoidais e a parede celular é basicamente composta de celulose e glicoproteínas.

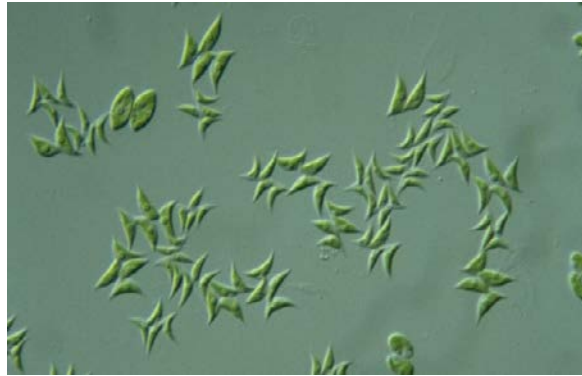
Figura 22 - Curva de Crescimento da *Scenedesmus* sp.



Fonte: O autor, 2013.

Chen *et al.*(2012), cultivaram a *S. obliquos* CNW-N em meio DM (Detmer's Medium) modificado usando CO<sub>2</sub> como fonte de carbono em fotobioreator durante 12 dias. A curva de crescimento mostrou uma produção de biomassa cumulativa de 2,5 g.L<sup>-1</sup> ao longo de 8 dias, onde foi atingida a fase estacionária do crescimento celular. Verificou também que o valor do pH aumentou lentamente com o crescimento celular.

Figura 23 - Fotomicrografia da microalga *Scenedesmus*.

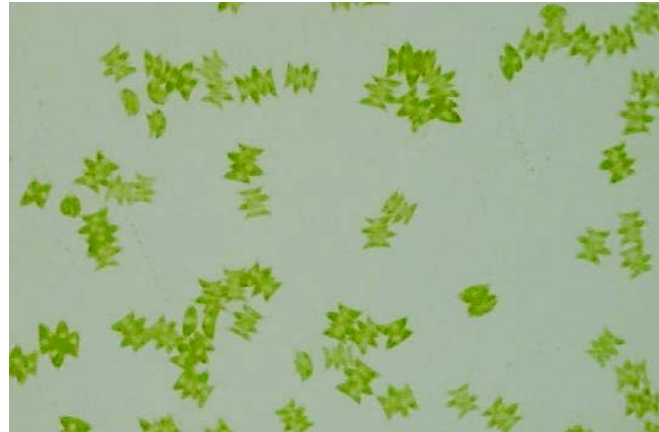


Fonte: AlgaeResourceDatabase, 2014.

As condições de cultivo e crescimento da *S. obliquus* também foram analisadas por Mandal e Mallick.(2009) ao investigarem a capacidade da microalga como fonte potencial para a produção de biodiesel. Culturas estéreis da alga verde *S. obliquus* foram cultivadas em frascos Erlenmeyer de 150 mL, agitadas manualmente duas ou três vezes por dia. A estimaco da massa seca foi feita por gravimetria. Verificou-se que o crescimento da microalga aumentou prontamente, com uma fase lag de 2 dias, seguido pela fase exponencial e atingindo a fase estacionria em aproximadamente 21 dias. O mximo de concentrao celular obtida foi de aproximadamente 1 g.L<sup>-1</sup> em 21 dias de cultivo. Tambm foi avaliada a utilizao de solues com diferentes concentraes de nitrato, fosfato e tiosulfato de sdio no meio de cultura. Conforme foi reduzida a concentrao dos sais, observou-se uma reduo na concentrao celular.

Nas condies de cultivo deste trabalho, pode-se afirmar que a *Scenedesmus* apresentou um bom crescimento celular, condizente com o crescimento de outras espcies em estudos relatados na literatura.

Figura 24 - Fotomicrografia das células da microalga *Scenedesmus* sp. utilizada neste trabalho. (Microscópio óptico, aumento de 400x)



Fonte: O autor, 2013.

### 3.2 Ensaio de Toxicidade

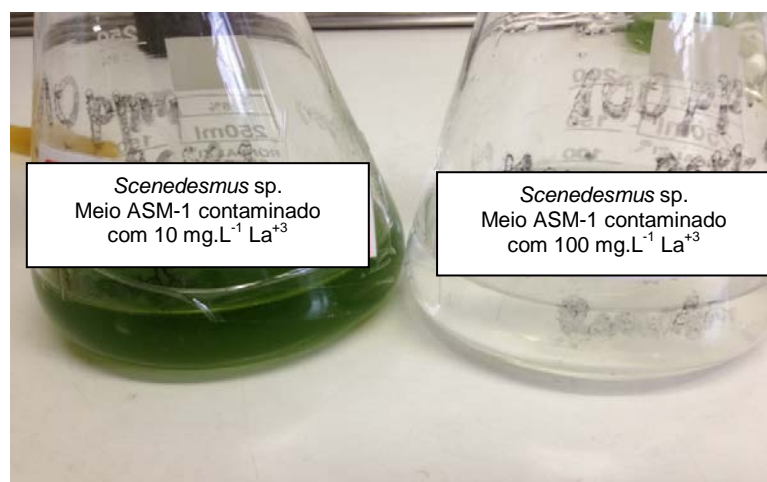
Os ensaios de toxicidade foram realizados com o objetivo de se obter uma informação prévia para os futuros ensaios de bioacumulação, onde foi medida a concentração de metal residual presente na solução. A toxicidade do lantânio foi avaliada pela medida da habilidade do elemento em inibir o crescimento da microalga, conforme descrito na ISO 8692 (ISO, 2004). Esta análise do crescimento celular das microalgas *Scenedesmus* sp. e *Monoraphidium* sp. foi através da: observação macroscópica da despigmentação da solução (figuras 25,26, 30 e 31) quando comparadas com a observação macroscópica dos cultivos das microalgas na ausência do metal (figuras 27 e 32); avaliação da morfologia celular por análise microscópica das células (figuras 28 e 33) e medidas de crescimento baseadas na massa seca das microalgas (figuras 29 e 34).

As figuras 25 e 26 apresentam o aspecto dos cultivos da microalga *Scenedesmus* sp. em meios de cultura ASM-1 contaminados com lantânio. Quando a concentração de lantânio foi de 10 mg.L<sup>-1</sup> observou-se que, ao final de 26 dias de cultivo, não houve redução na pigmentação da solução quando comparado ao cultivo na ausência do metal (figura 27),

comprovando assim que a microalga conseguiu crescer na presença do metal. Já quando a concentração de lantânio no meio ASM-1 foi de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  observou-se claramente que, após 26 dias de cultivo, a solução apresentou-se despigmentada, comprovando a ausência do crescimento celular. Tal ocorrência, na verdade, foi observada desde a primeira semana de cultivo, onde já houve a despigmentação da suspensão microbiana, refletindo, dessa forma, no prejuízo do crescimento das células da microalga estudada.

Diante dessa primeira observação, fez-se o estudo com concentrações intermediárias de lantânio, 25 e  $50 \text{ mg.L}^{-1}$ . Ao longo de 19 dias de cultivo no meio contaminado, observou-se despigmentação da solução, quando comparada à pigmentação do cultivo na ausência de metal (figura 27). Isto se deve à redução do pigmento clorofila a. A microalga *Scenedesmus* sp. apresentou sinais de crescimento quando se utilizou uma concentração de lantânio de  $25 \text{ mg.L}^{-1}$  presente no meio, porém inferior quando a concentração de lantânio foi de  $10 \text{ mg.L}^{-1}$ , conforme pode ser observado na análise comparativa das figuras 25 e 26. Já na concentração de  $50 \text{ mg.L}^{-1}$  de lantânio, a microalga não conseguiu se desenvolver. Assim, pode-se afirmar que o crescimento celular foi prejudicado nestas concentrações. Cabe ressaltar que a despigmentação dos cultivos já pode ser bem observada a partir do sétimo dia de cultivo em meios com concentrações de lantânio a partir de  $25 \text{ mg.L}^{-1}$ .

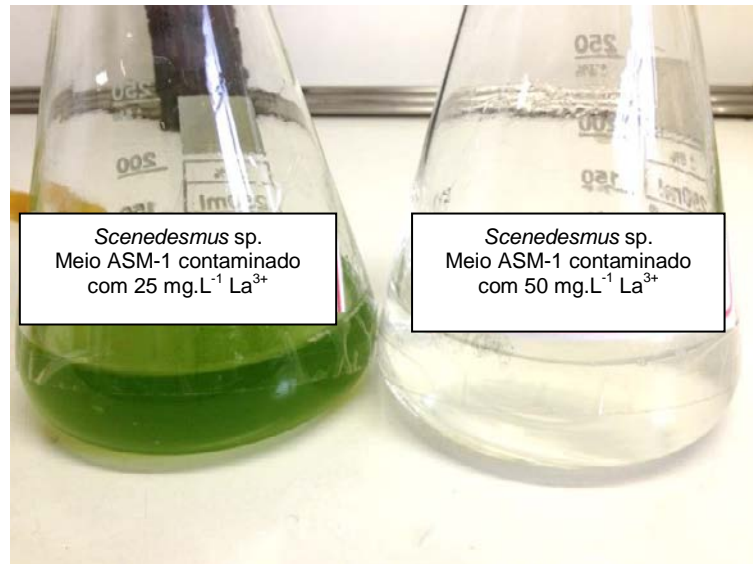
Figura 25 - Análise macroscópica do crescimento celular da microalga *Scenedesmus* sp. após 26 dias de cultivo em meio ASM-1 contaminado com 10 e  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{La}^{3+}$ .



Fonte: O autor, 2013.



Figura 26 - Análise macroscópica do crescimento celular da microalga *Scenedesmus* sp. após 19 dias de cultivo em meio contaminado com 25 e 50 mg.L<sup>-1</sup> de La<sup>3+</sup>.



Fonte: O autor, 2013.

Figura 27 - Cultivo de 22 dias da *Scenedesmus* sp. na ausência de lantânio.

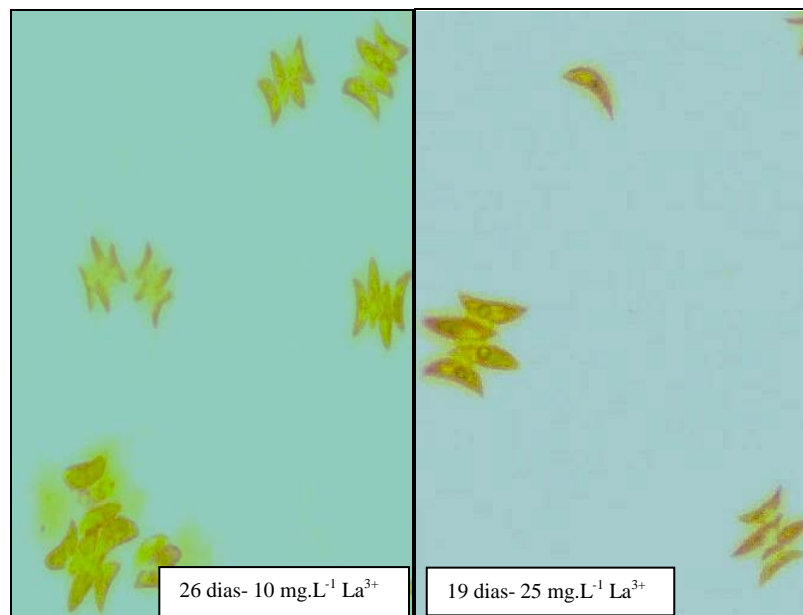


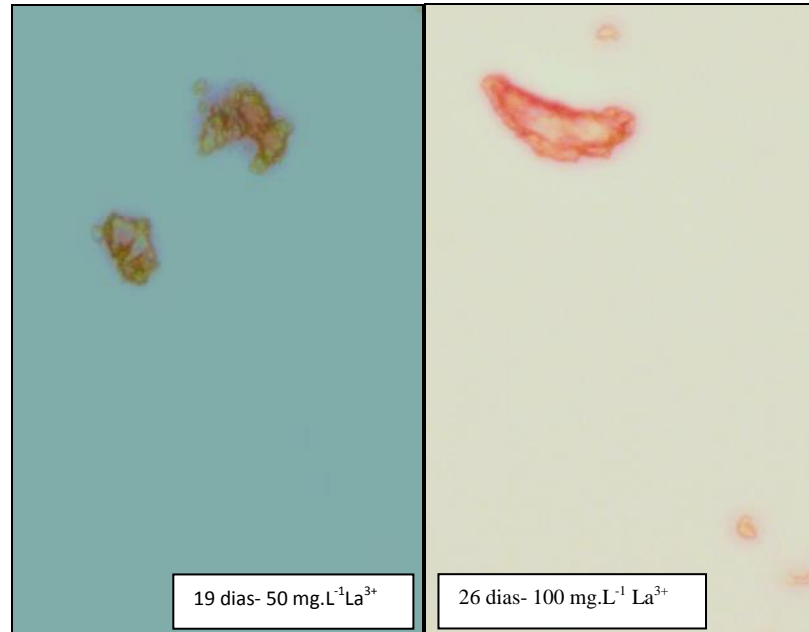
Fonte: O autor, 2013.



Para confirmar a análise macroscópica realizada, fez-se também uma análise microscópica das células da microalga estudada. A figura 28 mostra as fotomicrografias da *Scenedesmus* sp. quando cultivadas em meio ASM-1 contaminado com soluções de lantânio contendo 10, 25, 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>. Pode-se observar que elas mantiveram a integridade física da parede celular e a sua forma quando expostas às baixas concentrações de lantânio (10 e 25 mg.L<sup>-1</sup> de La<sup>3+</sup>), evidenciando que não houve prejuízo à célula. Quando foram empregadas altas concentrações de lantânio (50 e 100 mg.L<sup>-1</sup> La<sup>3+</sup>), verificou-se que houve morte celular, caracterizada pela destruição da parede celular, alteração da forma e cor da célula e até lise celular, fato verificado pela presença de pequenos fragmentos celulares espalhados por toda a lâmina contendo a amostra.

Figura 28 - Fotomicrografias de *Scenedesmus* sp. quando na presença de lantânio nas concentrações de 10, 25, 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>. (microscópio óptico, aumento de 400x).

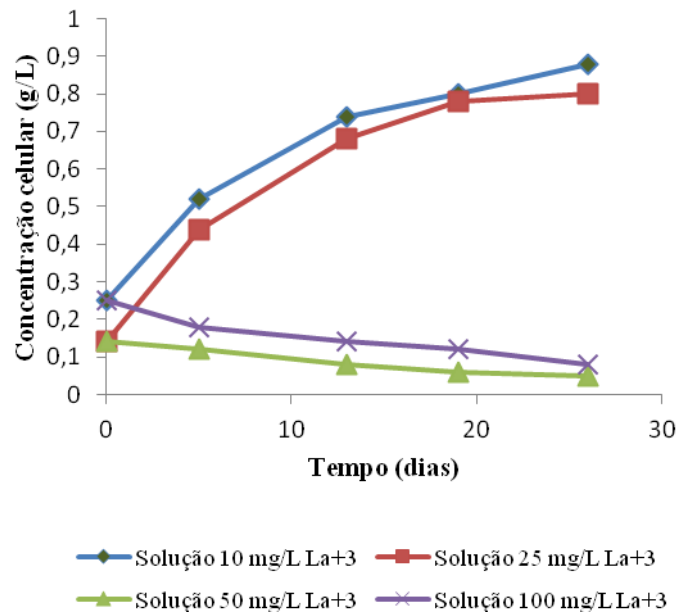




Fonte: O autor, 2013.

Com relação ao crescimento celular, obtido a partir da quantificação da massa seca ao longo de 19 e 26 dias de cultivo, verificou-se que houve uma redução no crescimento celular nas concentrações de 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup> de La<sup>3+</sup>. Já em baixas concentrações de lantânio (10 e 25 mg.L<sup>-1</sup>) houve crescimento celular, conforme resultados apresentados na figura 29, o que corrobora, assim, a observação microscópica.

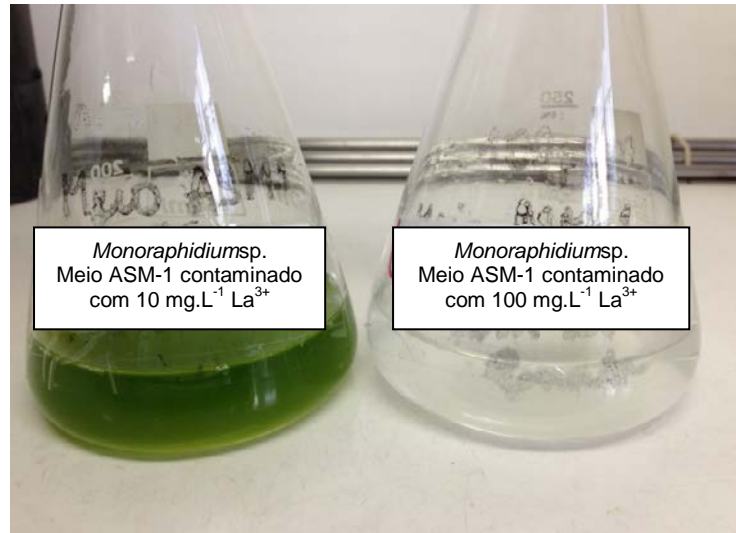
Figura 29 - Curvas de Crescimento da *Scenedesmus* sp. sob cultivo em meio contaminado por  $\text{La}^{3+}$  em diferentes concentrações.



Fonte: O autor, 2013.

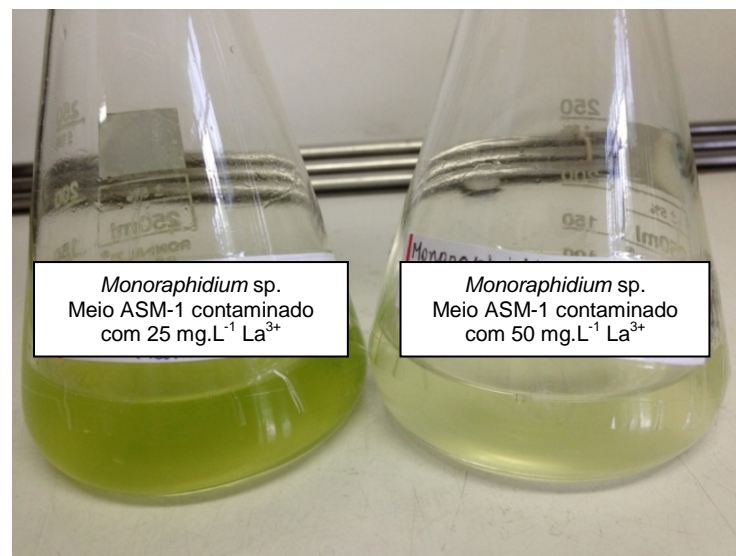
A microalga *Monoraphidium* sp. revelou comportamento similar ao da *Scenedesmus* sp.. Esta microalga apresentou crescimento celular em baixas concentrações de lantânio (10 e 25  $\text{mg.L}^{-1}$   $\text{La}^{3+}$ ). A partir de 50  $\text{mg.L}^{-1}$  de  $\text{La}^{3+}$ , a cultura apresentou grande redução da pigmentação da solução a partir da primeira semana de cultivo e, após 26 dias, ausência total de pigmentação quando a concentração de  $\text{La}^{3+}$  foi de 100  $\text{mg.L}^{-1}$ , conforme pode ser observado nas figuras 30 e 31.

Figura 30 - Análise macroscópica do crescimento celular da microalga *Monoraphidium* sp. após 26 dias de cultivo em meio contaminado com 10 e 100 mg.L<sup>-1</sup> de La<sup>3+</sup>, respectivamente.



Fonte: O autor, 2013.

Figura 31 - Análise macroscópica do crescimento celular da microalga *Monoraphidium* sp. após 19 dias de cultivo em meio contaminado com 25 e 50 mg.L<sup>-1</sup> de La<sup>3+</sup>.



Fonte: O autor, 2013.

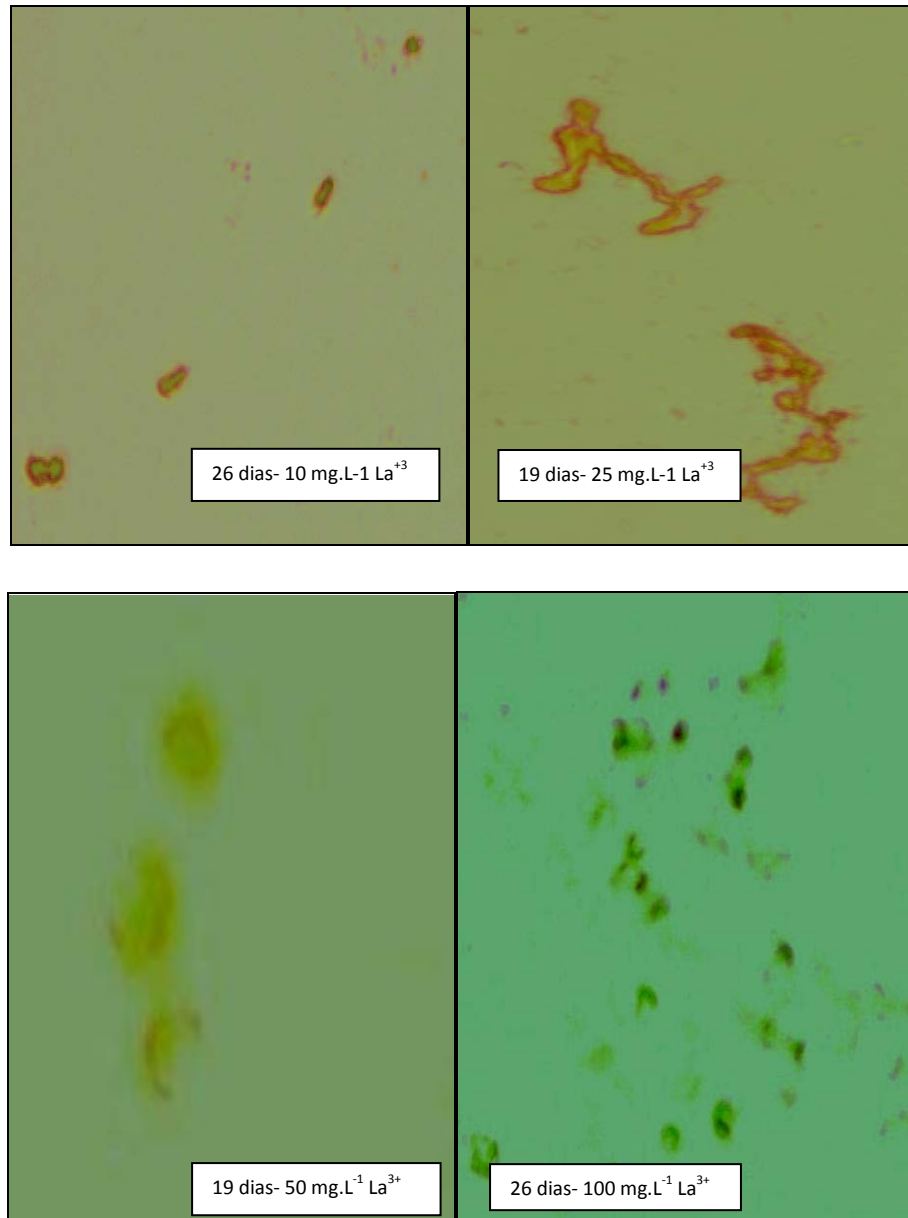
Figura 32 - Cultivo de 22 dias da *Monoraphidium* sp. na ausência de lantânio.



Fonte: O autor, 2013.

As mudanças ultraestruturais observadas por microscopia óptica revelaram forma celular deformada da *Monoraphidium* sp., até com perda da integridade celular da microalga, especialmente com 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup> de La<sup>3+</sup> (figura 33).

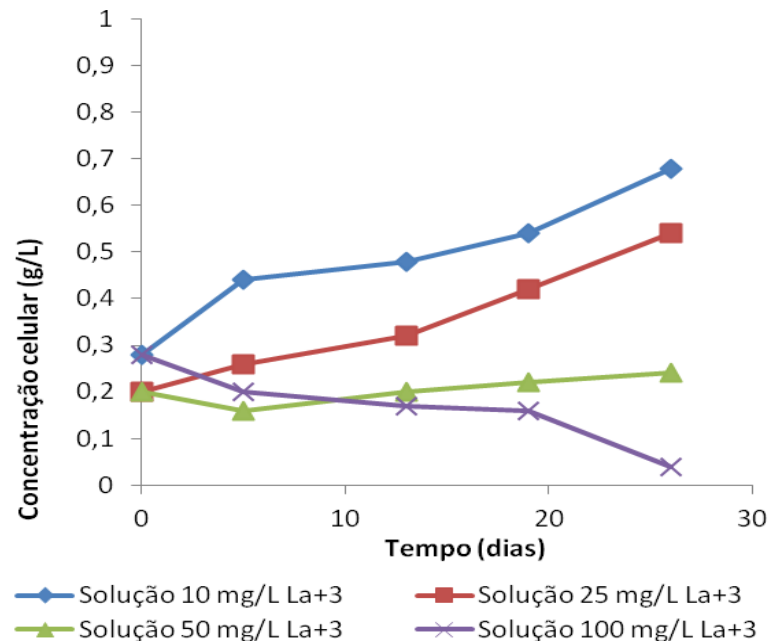
Figura 33 - Fotomicrografias de *Monoraphidium* sp. sob cultivo em meios contaminados com diferentes concentrações de  $\text{La}^{3+}$  (microscópio óptico, aumento de 400x).



Fonte: O autor, 2013.

Na análise do crescimento celular baseado no acompanhamento da massa seca da *Monoraphidium* sp., verificou-se que houve crescimento celular expressivo em baixas concentrações de lantânio, porém houve uma diminuição significativa do crescimento da microalga com altas concentrações do  $\text{La}^{3+}$  (50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>).

Figura 34 - Curvas de Crescimento da *Monoraphidium* sp. sob cultivo em meio contaminado por solução de  $\text{La}^{3+}$  com diferentes concentrações.



Fonte: O autor, 2013.

Com os resultados obtidos, pode-se concluir que o íon lantânio possui efeitos tóxicos sobre a microalga quando sua concentração é superior a  $25 \text{ mg.L}^{-1}$ . Estes resultados, para ambas as algas, concordam com estudos já realizados com outros microrganismos. Segundo Lin *et al.*(2003) o lantânio inibiu o crescimento da *Microcystis* em experimentos em cultura em batelada quando sua concentração foi maior que  $104 \mu\text{mol.L}^{-1}$  ( $14,35 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Jin *et al.*(2009) verificaram que o lantânio inibiu o crescimento da alga quando sua concentração foi superior a  $72 \mu\text{mol.L}^{-1}$  ( $10 \text{ mg.L}^{-1} \text{ La}^{3+}$ ). Shi e Zhao (1987) relataram que o lantânio começou a inibir o crescimento da *Chlorella reinhardtii* quando a concentração atingiu  $144 \mu\text{mol.L}^{-1}$  ( $20 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Tai *et al.*(2010) mostraram que a inibição do crescimento da *Skeletonema costatum* na presença de diferentes lantanídeos, quando sozinhos em solução, foi a mesma, e que o  $\text{EC}_{50}(0-72\text{h})$  para todos os lantanídeos foi de  $29,04 \pm 0,61 \mu\text{mol.L}^{-1}$ .

### 3.3 Ensaios de bioacumulação.

As figuras 35 e 36 apresentam a porcentagem de captação do metal pelas microalgas *Scenedesmus* sp. e *Monoraphidium* sp. quando foram utilizadas concentrações iniciais de 10, 25, 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup> (72,4 μmol.L<sup>-1</sup>; 181,2 μmol.L<sup>-1</sup>; 362,3 μmol.L<sup>-1</sup> e 724 μmol.L<sup>-1</sup>) de lantânio no meio de cultura ASM-1 para um tempo de cultivo de sete dias.

A figura 35 mostra que o aumento da concentração do lantânio no meio de cultura, produz uma diminuição da captação do metal. As observações condizem com os ensaios de toxicidade anteriores que revelaram que o crescimento da microalga foi prejudicado com o aumento da concentração de lantânio no meio de cultura, conforme mostrado no item 4.2.

A porcentagem de metal captado foi obtida a partir da equação 6:

$$P = \frac{(C_0 - C) \times 100}{C_0} \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

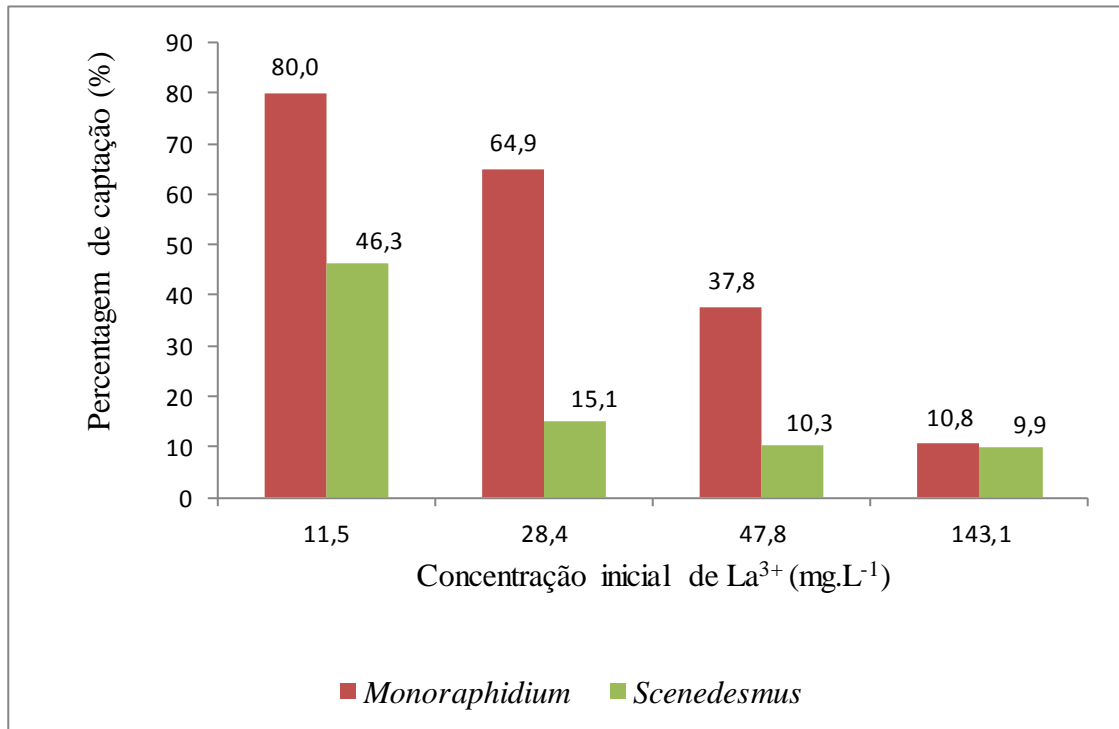
$C_0$  é a concentração inicial do metal adicionado ao meio de cultura ASM-1;

$C$  é a concentração residual de metal na solução.

Logo,  $(C_0 - C)$  é a quantidade de metal que foi captada pela microalga.



Figura 35 - Perfil de captação do lantânio pelas microalgas cultivadas por 7 dias na presença de lantânio em diferentes concentrações.



Fonte: O autor, 2013.

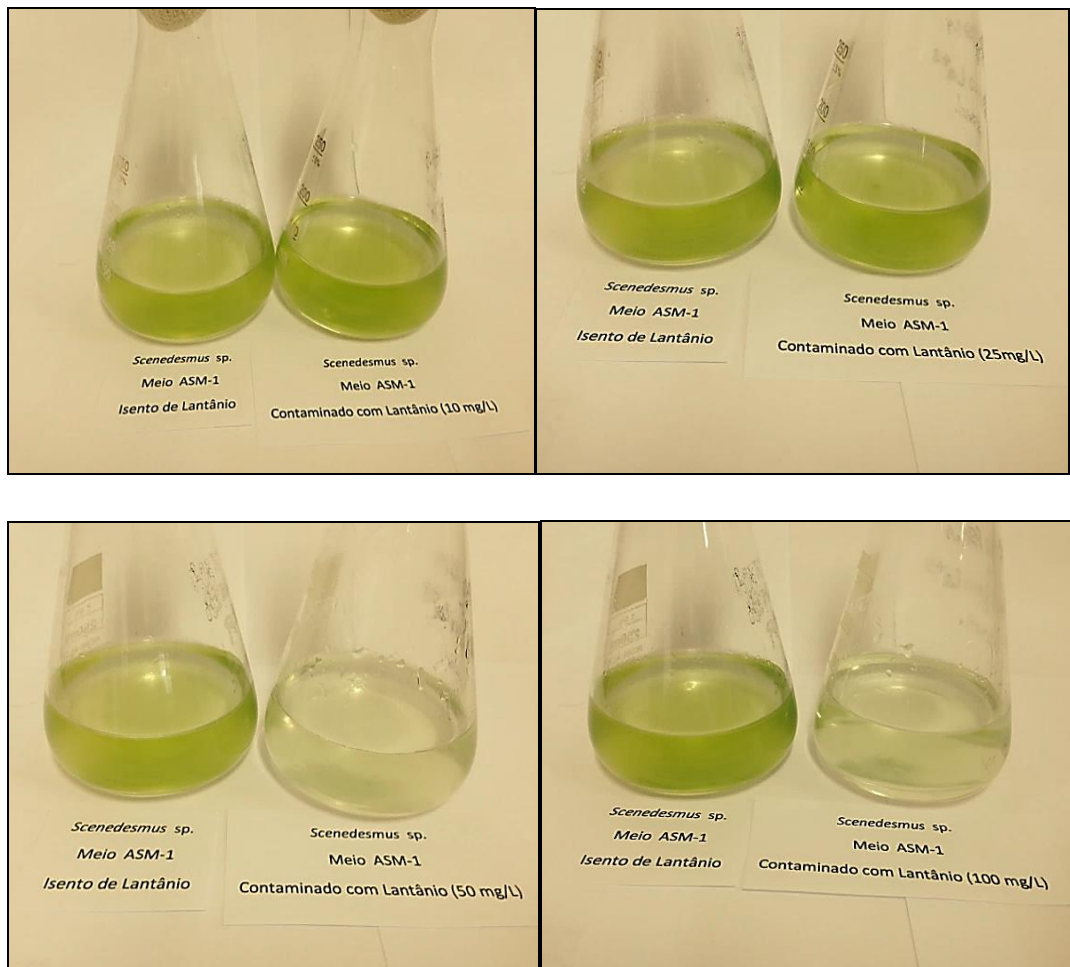
Com relação à captação do metal das duas microalgas (figura 35), houve um decréscimo para todas as concentrações, para a *Scenedesmus* sp., principalmente a partir de 25 mg.L<sup>-1</sup> de concentração inicial do elemento, indicando que esta microalga não absorve tanto o lantânio quando comparada à *Monoraphidium* sp..

Os ensaios de bioconcentração incluíram uma análise macroscópica e uma análise microscópica do crescimento celular. Os resultados obtidos também corroboraram com os resultados dos testes de toxicidade já antes apresentados, evidenciando mais uma vez que, conforme se aumentou a quantidade do lantanídeo em solução, houve prejuízo do crescimento celular, principalmente em concentração de La<sup>3+</sup> superior a 50 mg.L<sup>-1</sup>, conforme se observou nas figuras 36 e 37.

A figura 36a apresenta o aspecto macroscópico do cultivo celular da microalga *Scenedesmus* quando na ausência do lantanídeo e quando na presença do elemento de terras

raras, em quatro diferentes concentrações. As fotos revelam que houve uma forte despigmentação da solução quando a concentração do lantanídeo foi superior a  $50 \text{ mg.L}^{-1}$ .

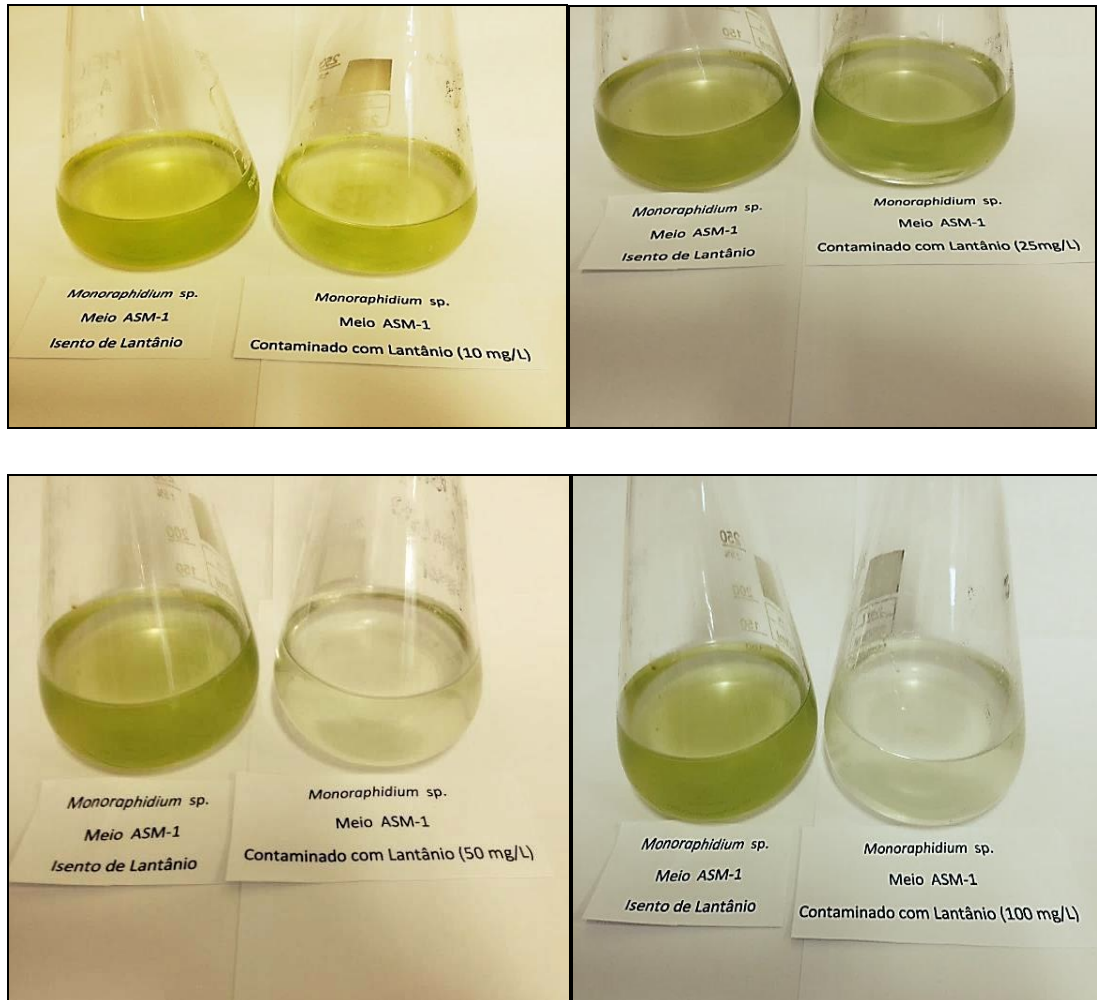
Figura 36 - Análise comparativa dos cultivos de *Scenedesmus* sp. em meio ASM-1 isento de lantânio e na presença de diferentes concentrações do íon metálico.



Fonte: O autor, 2013.

Os mesmos ensaios foram também realizados para a *Monoraphidium* sp. e, como ocorreu com a *Scenedesmus* sp., a cultura apresentou despigmentação quando a concentração de lantânio foi superior a  $50 \text{ mg.L}^{-1}$ , conforme mostra a figura 37.

Figura 37 - Análise comparativa dos cultivos de *Monoraphidium* sp. em meio ASM-1 isento de lantânio e na presença de diferentes concentrações do íon metálico.

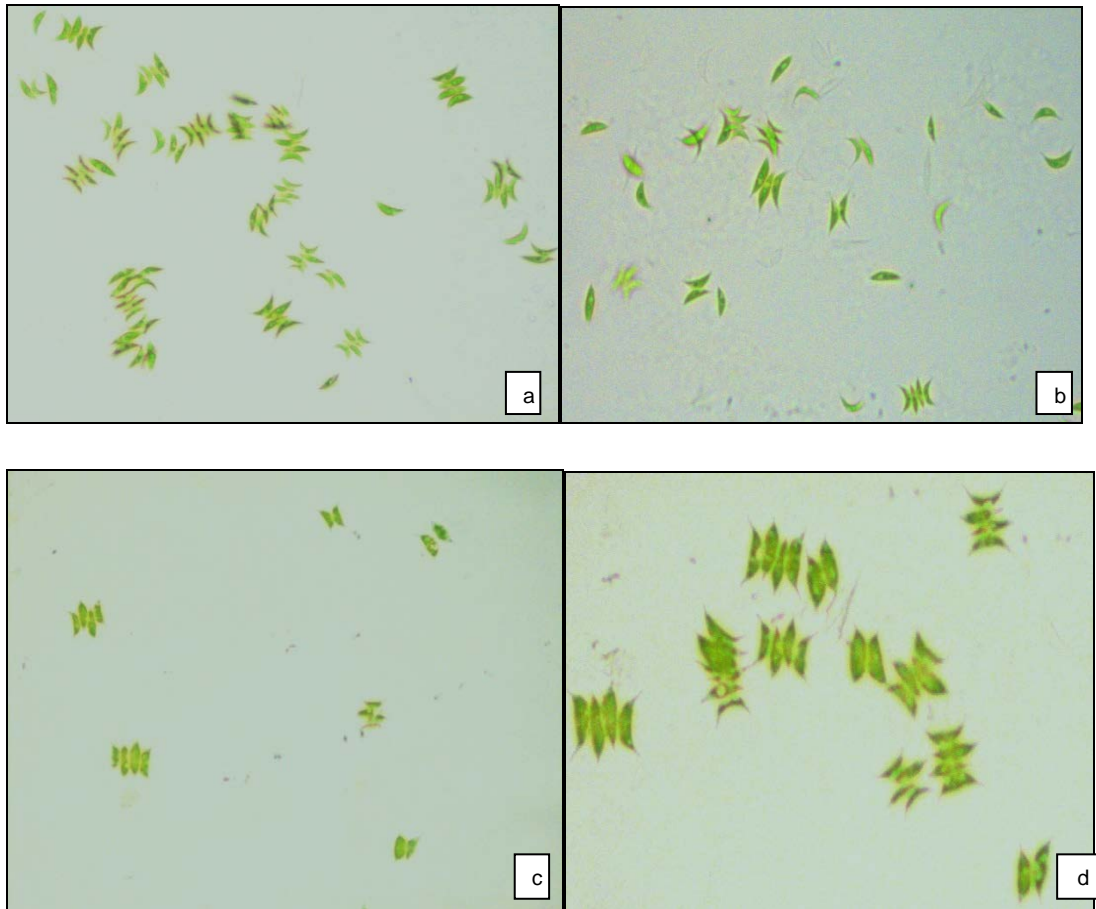


Fonte: O autor, 2013.

Ao se analisar os ensaios de bioconcentração, cabe uma avaliação se os mecanismos de captação do metal foram realmente de bioacumulação, ou seja, um mecanismo de remoção dependente de energia e do metabolismo da célula, ou apenas um processo de adsorção na superfície celular, independente de energia e do metabolismo da célula. Por este motivo, buscou-se realizar uma análise microscópica das células a fim de se verificar algum tipo de mudança estrutural ou até mesmo a formação de aglomerados.

As figuras 38 e 39 apresentam as fotomicrografias da *Scenedesmus* sp. e da *Monoraphidium* sp., respectivamente, na presença de várias concentrações de lantânio.

Figura 38 - Fotomicrografia da *Scenedesmus* sp. após 7 dias em presença do lantânio no meio de cultura, em diferentes concentrações



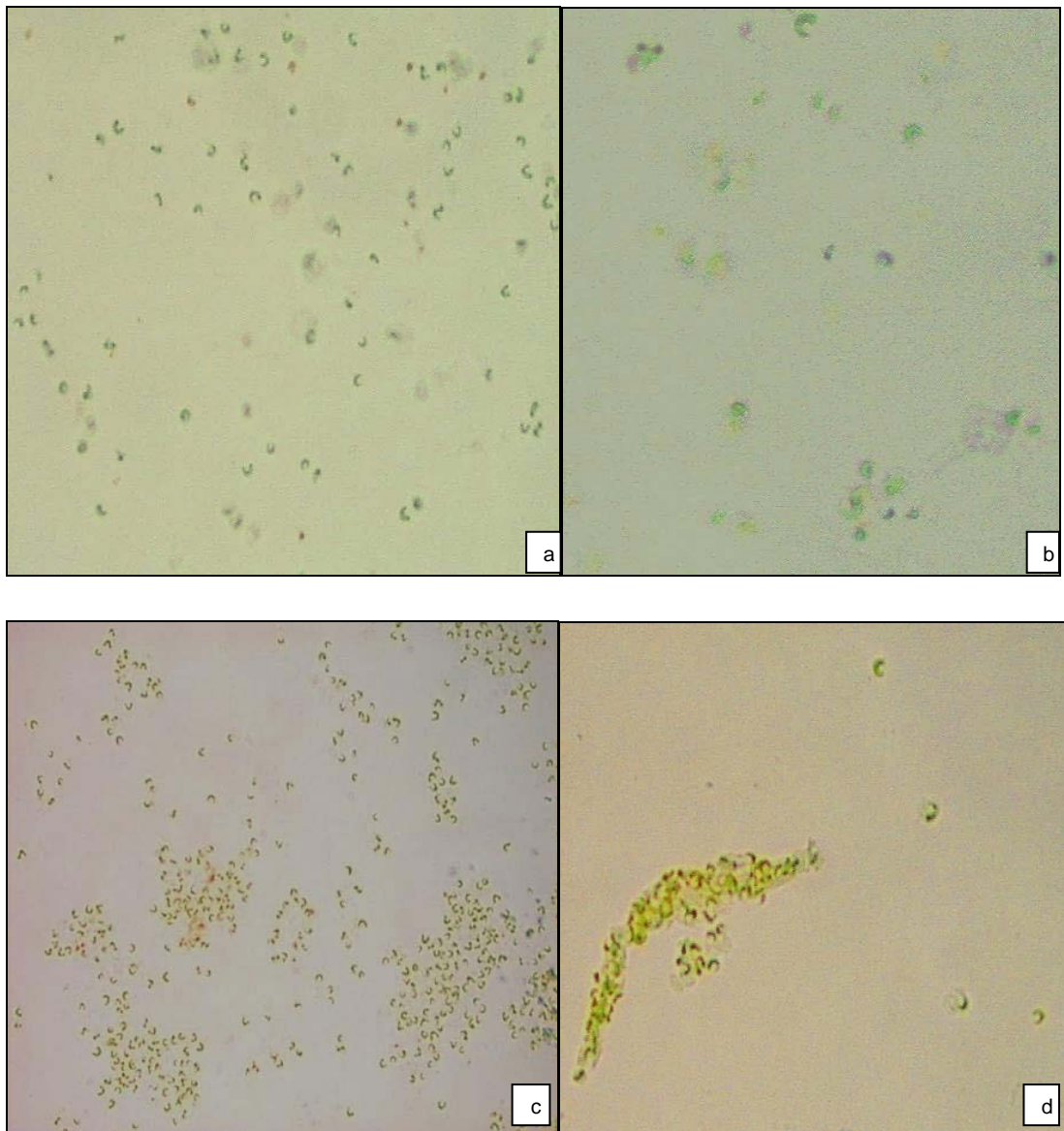
Legenda: (a) 10 mg.L<sup>-1</sup> de La<sup>3+</sup>; (b) 25 mg.L<sup>-1</sup> La<sup>3+</sup>; (c) 50 mg.L<sup>-1</sup> La<sup>3+</sup>; (d) 100 mg.L<sup>-1</sup> La<sup>3+</sup>.

Fonte: O autor, 2013.

Ao se analisar as fotomicrografias da *Scenedesmus* sp. (figura 38) quando na presença de diferentes concentrações de lantânio, verificou-se que em todas as concentrações foram encontradas células ainda aparentemente íntegras, porém nas concentrações mais altas (50 e 100 mg.L<sup>-1</sup> de La<sup>3+</sup>), as células apresentam-se muito inchadas, com alteração de coloração e prejuízos na parede celular.

A mesma análise microscópica foi realizada para o outro gênero de microalga, a *Monoraphidium* sp. (figura 39).

Figura 39 - Fotomicrografias da *Monoraphidium* sp. Após 7 dias em presença de lantânio no meio de cultura em diferentes concentrações.



Legenda: a.  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{La}^{3+}$ ; b.  $100 \text{ mg.L}^{-1}$   $\text{La}^{3+}$ ; c.  $25 \text{ mg.L}^{-1}$   $\text{La}^{3+}$ ; d.  $50 \text{ mg.L}^{-1}$   $\text{La}^{3+}$ .

Pela análise das fotomicrografias da *Monoraphidium* sp. observa-se que na concentração de  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  de lantânio, a microalga não apresentou diferença estrutural e nem redução de pigmentação. Seu crescimento, conforme já discutido nos ensaios de toxicidade, também não ficou prejudicado. No entanto, a percentagem de captação do metal pela microalga foi alta (80%), conforme visto na figura 35, indicando que a microalga removeu, por algum mecanismo, o metal. Com a concentração de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ , foi verificado que houve



prejuízo no crescimento celular até com morte celular, caracterizado pela despigmentação da solução, pela alteração da forma das células e até com lise celular. Pode-se notar na fotomicrografia dos ensaios de toxicidade fragmentos celulares espalhados por toda a lâmina, após 26 dias de cultivo.

Dessa forma, não se pode concluir pelas fotomicrografias se houve de início uma captação de metal pela microalga por bioacumulação. No entanto, se houve, mesmo pequena, com a lise celular todo o conteúdo intracelular foi provavelmente extravasado, refletindo assim, numa baixa captação do metal (10%) após 7 dias de cultivo. De outra forma, pode-se concluir que, se houve prejuízo de crescimento celular e até morte celular em altas concentrações de lantânio, obviamente não haveria células suficientes para captar o metal seja por qualquer mecanismo de captação.

As fotomicrografias também revelaram um comportamento intrigante e similar ao de algumas bactérias quando na presença de metais tóxicos. Verificou-se que nas concentrações de 25 e 50 mg.L<sup>-1</sup> de lantânio, a microalga *Monoraphidium* pareceu ter exibido tendência ao agrupamento de células, provavelmente excretando EPS (substâncias exopoliméricas extracelulares) que promovem o agrupamento celular como mecanismo de defesa. As captações de metal nestas concentrações foram de 64% e 37%, respectivamente, conforme mostrado na figura 35. Dessa forma, notou-se que houve remoção do metal mesmo na concentração de 50 mg.L<sup>-1</sup>, onde a microalga já apresentava prejuízo de crescimento celular e despigmentação da solução. Se a microalga não apresentasse redução de crescimento nesta concentração, a captação provavelmente seria maior, qualquer que fosse o mecanismo utilizado na remoção do metal.

Várias células microbianas podem produzir substâncias poliméricas extracelulares (EPS), que levam à formação de flocos que conduzem à aglomeração de bactérias (Sponza, 2002). Algas e outras plantas aquáticas são conhecidas por bombear ativamente metais através de suas membranas celulares. Isto requer uma fonte de energia e está então geralmente relacionado à fotossíntese e temperatura. Uma vez que grandes quantidades de metais no ambiente são nutrientes essenciais, não é surpresa que muitos destes metais são ativamente bombeados para dentro das células das algas. O problema aparece quando as concentrações externas de metais excedem às necessidades da célula. Segundo Evans (1983), cátions de elementos de terras raras não podem entrar em células vivas por transporte dependente de

energia ou por transporte passivo e, por isso, Korovenesky *et al.* (1999) concluiu, em seu trabalho, que estes metais são sorvidos pelas estruturas das superfícies das leveduras.

Um estudo realizado com urânio mostrou que, mesmo não sendo um nutriente requerido pela célula, o urânio pode imitar um metal que é requerido. Seja qual for o mecanismo, o urânio (IV) é captado por algumas células de algas e, uma vez dentro da célula, é concentrado em vacúolos e algumas vezes precipitado. Pribil e Marvan (1976) trabalhando com a *Scenedesmus* encontraram que a acumulação de urânio ocorreu em duas etapas, uma rápida e uma lenta. A segunda, a etapa lenta, pareceu ser dependente da temperatura e também pode ter indicado alguma captação ativa do U(IV). Mann e Fyfe (1985), encontraram cristais de urânio dentro das células das algas de *Spirogyra* (Clorófitas). Apesar de distintas em relação às duas células estudadas nessa dissertação, os exemplos foram mencionados para ilustrar possíveis mecanismos envolvidos na captação do elemento metálico.

Hao *et al.*, 1997, estudaram a bioconcentração do lantânio, Gd, e Y (livres e complexados com ligantes orgânicos) em alga (*Chlorella vulgaris Beijerinck*), após 96h de cultivo. Os resultados mostraram que o processo de bioconcentração desses elementos pela alga foi altamente dependente das espécies químicas. Os dados experimentais do citado estudo mostraram que a relação entre os ETR's nas algas e sua concentração no meio de cultura pode ser descrita pela equação de adsorção da isoterma de Freundlich, indicando um mecanismo de adsorção dominante. Neste estudo foram identificados dois períodos diferentes: o primeiro período de 10h de exposição que correspondeu a uma captação rápida, e o segundo período, que correspondeu a uma captação mais lenta. Quase todo o equilíbrio foi atingido com um tempo de exposição de 24h. Estes dados sugeriram aos autores que a captação destes elementos pode envolver diferentes processos, incluindo uma adsorção inicial dominante na superfície das células e em seguida o transporte para dentro das células por difusão ou por um processo dependente do metabolismo. Os autores sugeriram que o primeiro evento durante a bioconcentração das diferentes espécies de elementos de terras raras foi sua ligação com sítios da membrana superficial (provavelmente grupos funcionais de proteínas), que foram expostos diretamente à água e, em seguida, eles entram nos tecidos. Os ETR's ligados aos sítios da superfície atingiriam o equilíbrio com aqueles dentro da célula. Esta etapa é um processo de reação lenta e lá os elementos de terras raras participam de várias reações bioquímicas ou podem ser retidos pela alta afinidade com ligantes para armazenamento ou desintoxicação.

No presente estudo realizado com a *Scenedesmus* e *Monoraphidium*, o íon metálico foi captado pela célula, mas diante dos ensaios realizados, não se pode concluir exatamente por qual o mecanismo. A microscopia revelou efeitos celulares importantes que mostraram que a célula reage à presença do íon (*Monoraphidium* se aglomerou e *Scenedesmus* aumentou de tamanho); porém, como em altas concentrações o elemento de terra rara é tóxico, houve lise celular. O conteúdo intracelular pode ter sido extravasado e assim, não foi possível detectar se o íon metálico foi captado para dentro da célula. Um estudo de dessorção pode ser realizado para verificar se o metal esteve apenas retido na parede celular ou se esteve acumulado no interior da célula.

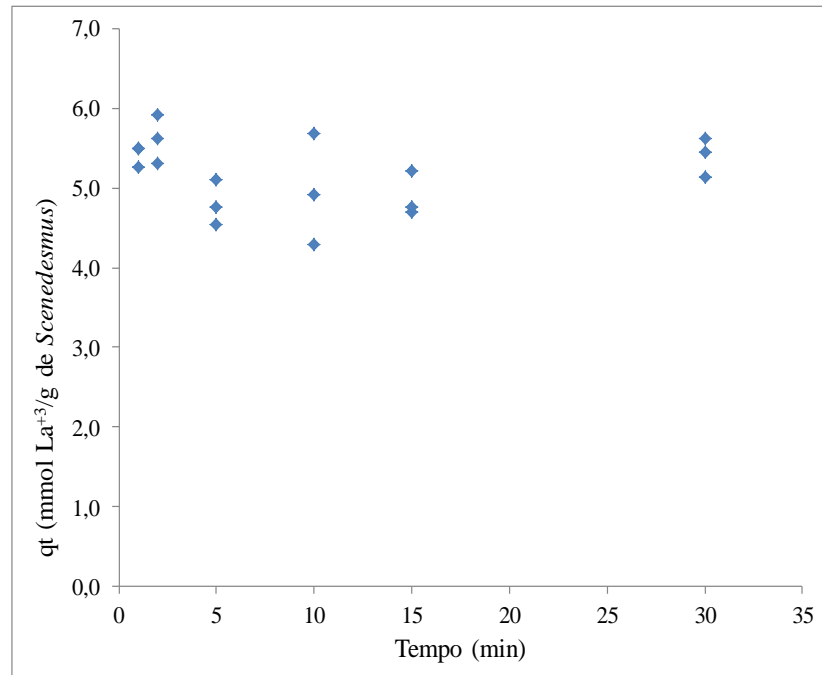
### **3.4. Ensaio de biossorção do lantânio.**

#### **3.4.1. Ensaio cinético da biossorção do lantânio pela microalga livre *Scenedesmus* sp.**

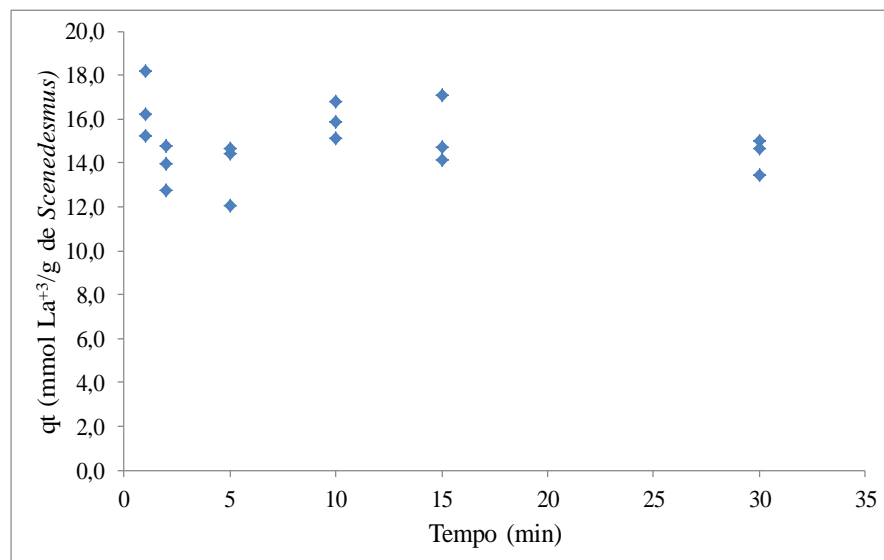
A figura 40 apresenta os resultados obtidos dos ensaios cinéticos realizados com a microalga *Scenedesmus* sp.



Figura 40 - Cinética de biossorção do lantânio pela *Scenedesmus* sp.



(a)



(b)

Legenda: (a) Solução de lantânio mais diluída ( $C_0=0,076$  mmol/L) e (b) Solução de lantânio mais concentrada ( $C_0=0,784$  mmol/L)

Fonte: O autor, 2013.

Nas condições do presente ensaio (utilizando-se massa de biossorvente pequena) verificou-se que a captação do lantânio ocorreu logo nos primeiros minutos do ensaio, onde já foi atingido um valor de captação ( $q_t$ ) de aproximadamente  $5,0 \text{ mmol.g}^{-1}$  (para a solução de lantânio mais diluída) e aproximadamente  $15 \text{ mmol.g}^{-1}$  (para a solução de lantânio mais concentrada). Devido ao fato da remoção de metal ter ocorrido logo nos minutos iniciais, não foi possível fazer a modelagem dos dados para se verificar se a cinética de remoção, uma vez que o equilíbrio foi quase que instantaneamente atingido.

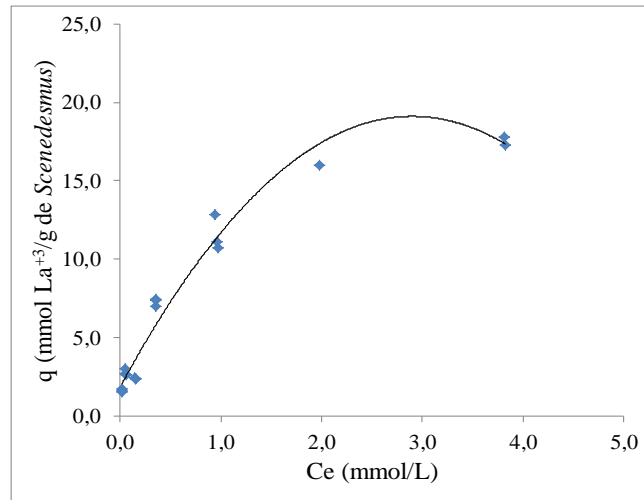
#### 3.4.2. Ensaio de Equilíbrio na biossorção do lantânio pela *Scenedesmus* sp.

Uma vez determinado o tempo de equilíbrio nos ensaios cinéticos, que foi, no máximo igual a 5 minutos, procedeu-se aos ensaios de equilíbrio, a fim de verificar a capacidade máxima de biossorção do metal pela microalga. Para tanto, diferentes concentrações de solução de lantânio foram utilizadas com concentrações que variaram de  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  ( $0,072 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) até  $500 \text{ mg.L}^{-1}$  ( $3,6 \text{ mmol.L}^{-1}$ ).

A figura 41 apresenta a isoterma de equilíbrio da microalga *Scenedesmus* sp. na remoção de lantânio. Observou-se que o máximo valor de  $q$  ( $\text{mmol de La}^{+3}/\text{g de Scenedesmus}$ ) foi de  $17,8 \text{ mmol.g}^{-1}$ . A quantidade de biomassa utilizada foi de  $0,0006\text{g}$ .

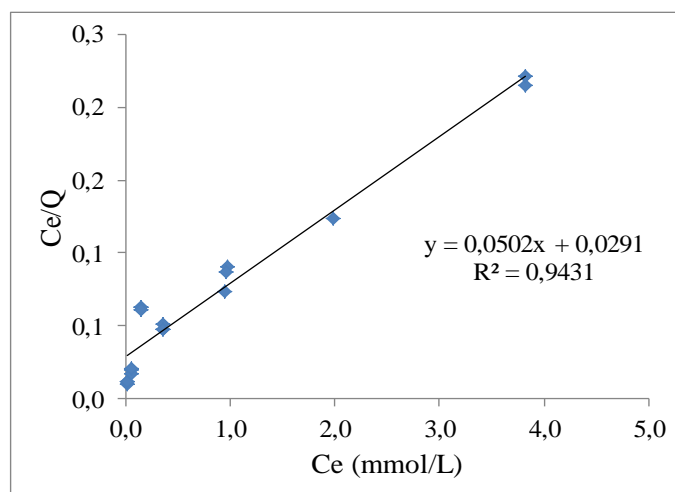
Com o objetivo de entender a capacidade da *Scenedesmus* como adsorvente do lantânio bem como o processo envolvido na captação do metal, os dados de equilíbrio foram avaliados de acordo com as isotermas de Langmuir (figura 42) e Freundlich (figura 44).

Figura 41 - Isoterma de Equilíbrio representando a remoção de lantânio pela *Scenedesmus* sp.



Fonte: O autor, 2013.

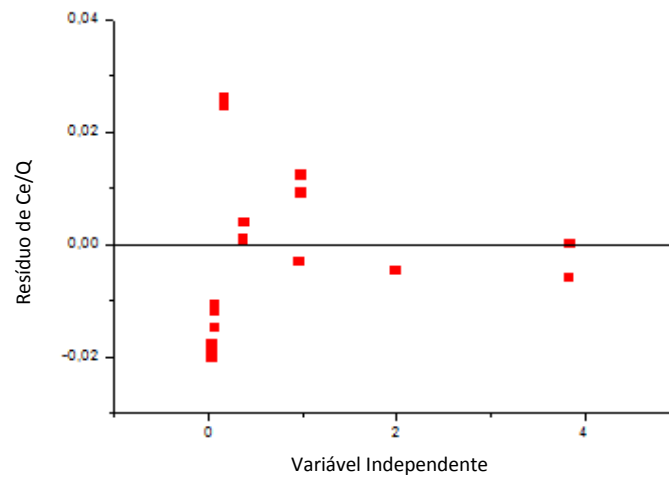
Figura 42 - Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de lantânio pela *Scenedesmus* sp., ajustados segundo o Modelo de Langmuir.



Fonte: O autor, 2013.

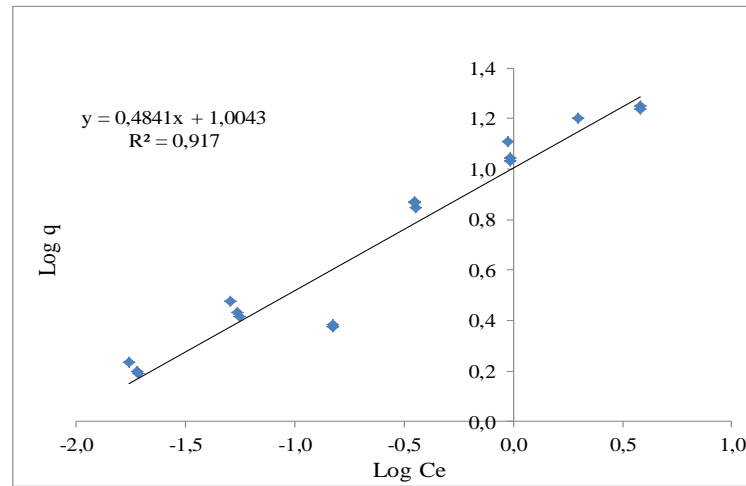
A análise dos resíduos é um dos fatores que contribuem para verificar a adequação de um modelo. Ela é frequentemente útil na verificação da suposição de que os erros estejam distribuídos de forma aproximadamente normal, com variância constante. Ao se obter tais gráficos deve-se avaliar se eles exibem um padrão de comportamento considerado ideal ou se apresenta um padrão de comportamento que exhibe tendências ou anomalias (situações não ideais). Tal análise ajuda no julgamento da adequação ou não do modelo (Montgomery e Runger, 2011). Sendo assim as figuras 43 e 45 apresentam os gráficos de resíduos para os modelos de Langmuir e Freundlich, respectivamente.

Figura 43 - Resíduos dos dados ajustados ao Modelo de Langmuir para o ensaio de equilíbrio da *Scenedesmus* sp. na remoção de lantânio.



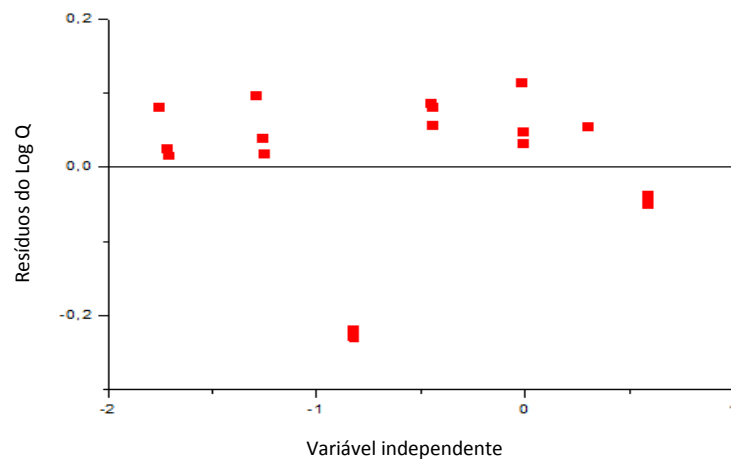
Fonte: O autor, 2013.

Figura 44 - Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de lantânio pela *Scenedesmus* sp., ajustados segundo o Modelo de Freundlich.



Fonte: O autor, 2013.

Figura 45 - Resíduos dos dados ajustados ao Modelo de Freundlich para os dados do ensaio de equilíbrio da *Scenedesmus* sp. na remoção de lantânio.



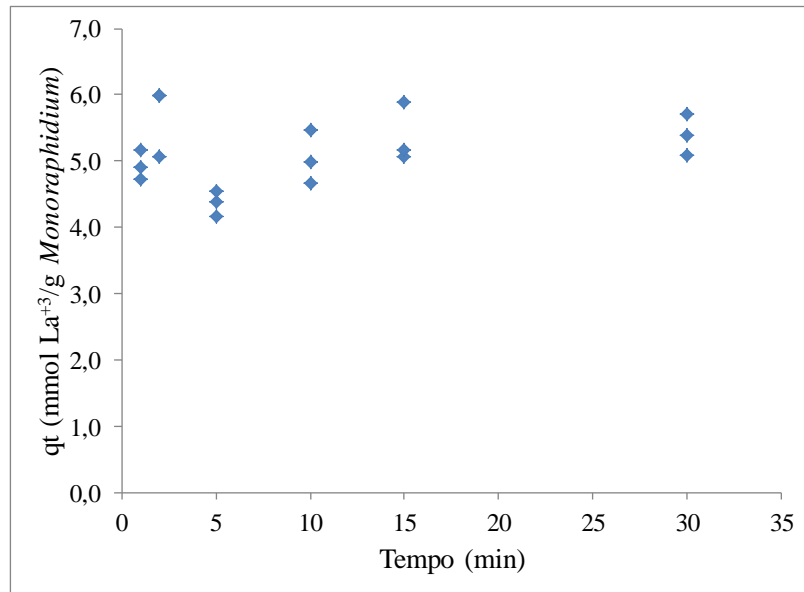
Fonte: O autor, 2013.

Ao fazer a análise dos gráficos (figuras 42 e 44), verificou-se que os modelos apresentaram pouca diferença no coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Pela análise dos gráficos de resíduos (figuras 43 e 45) ambos os gráficos não evidenciaram uma melhor adequação de um ou outro modelo na biossorção da microalga pelo lantânio pois exibiram desigualdades da variância. Os resíduos não ficaram aleatoriamente dispostos acima e abaixo ao longo de todo o eixo central. Na verdade, o gráfico da figura 43 até exibiu uma possível tendência (disposição dos pontos formando um afunilamento ao longo do eixo central). Então, não foi possível concluir de maneira satisfatória a adequação preferencial de um ou outro modelo na captação do lantânio pela *Scenedesmus* nas condições selecionadas.

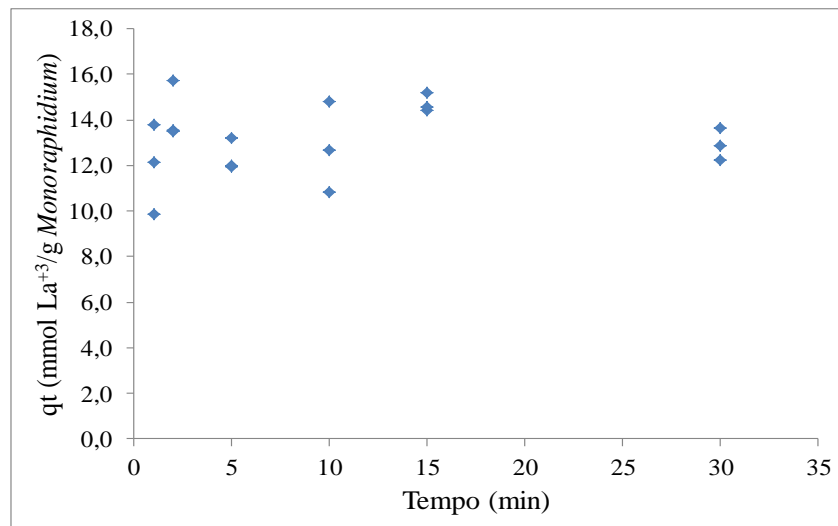
### 3.4.3. Ensaio cinéticos da biossorção do lantânio pela microalga livre *Monoraphidium* sp.

Os ensaios cinéticos para a *Monoraphidium* sp., também revelaram que a captação do metal pela microalga ocorreu logo nos primeiros 5 minutos de ensaio, onde foram atingidas as concentrações de equilíbrio de aproximadamente  $5 \text{ mmol.g}^{-1}$ , para a solução de lantânio mais diluída e de aproximadamente  $14 \text{ mmol.g}^{-1}$ , para a solução de lantânio mais concentrada. Tais resultados estão representados na figura 46.

Figura 46 - Cinética de biossorção do lantânio pela *Monoraphidium* sp..



(a)



(b)

Legenda: (a) Solução de lantânio mais diluída ( $C_0=0,076$  mmol/L) e (b).  
Solução de lantânio mais concentrada ( $C_0=0,784$  mmol/L).

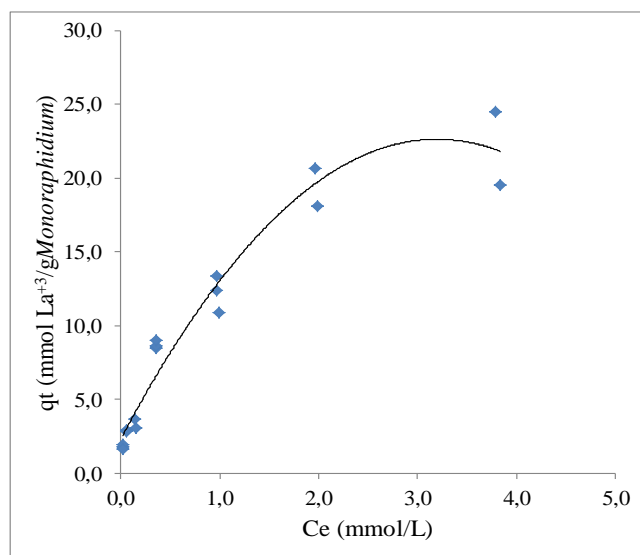
Fonte: O autor, 2013.

Assim como foi visto para a *Scenedesmus* sp., não foi possível modelar os dados da cinética para a *Monoraphidium* sp. a fim de se obter o mecanismo da cinética da biossorção, pois a captação também ocorreu nos primeiros minutos, indicando não ser possível modelar para concluir sobre a cinética da biossorção.

#### 3.4.4. Ensaio de equilíbrio para a *Monoraphidium.sp.*

A figura 47 apresenta os resultados obtidos dos ensaios de equilíbrio de biossorção do lantânio pelo outro gênero de microalga, a *Monoraphidium sp.* e, com o objetivo de entender a capacidade da *Monoraphidium sp.* como adsorvente do lantânio, os dados de equilíbrio foram avaliados segundo as isotermas de Langmuir e Freundlich. A figura 48 mostra os dados ajustados segundo o modelo de Langmuir.

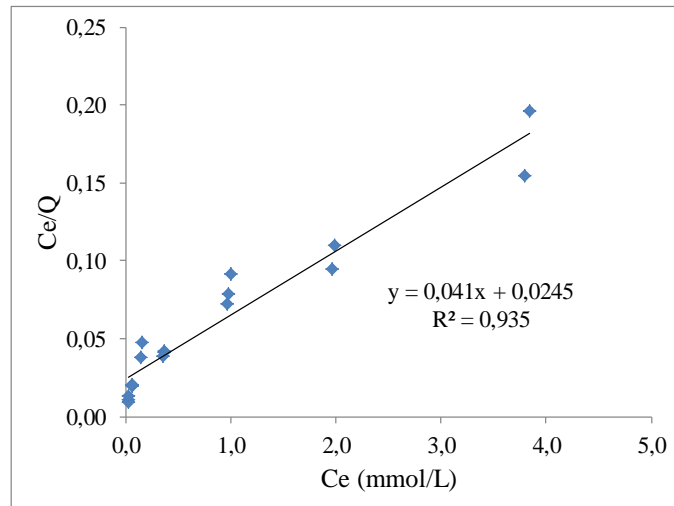
Figura 47- Isoterma de Equilíbrio representando a remoção de lantânio pela *Monoraphidium sp.*



Fonte: O autor, 2013.



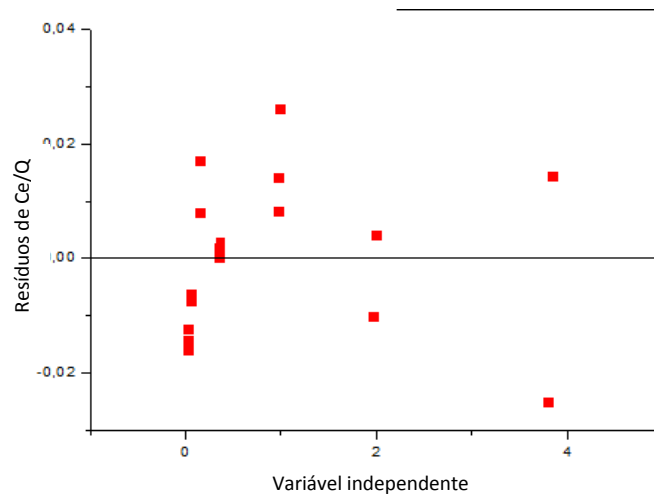
Figura 48 - Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de lantânio pela *Monoraphidium* sp., segundo o Modelo de Langmuir.



Fonte: O autor, 2013.

A fim de se verificar a adequação do modelo de Langmuir, foi gerado um gráfico com os resíduos como apresentado na figura 49.

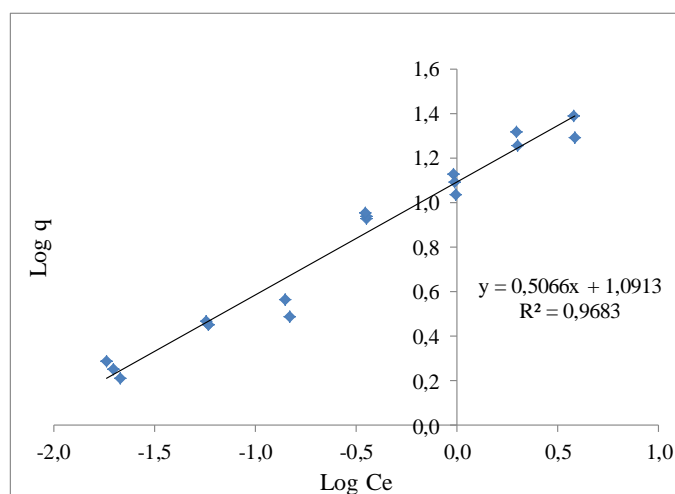
Figura 49 - Resíduos dos dados ajustados segundo o Modelo de Langmuir para o ensaio de equilíbrio da *Monoraphidium* sp., na remoção de lantânio



Fonte: O autor, 2013.

Os resultados do ensaio de equilíbrio também foram ajustados segundo o modelo de Freundlich, conforme gráfico apresentado na figura 50.

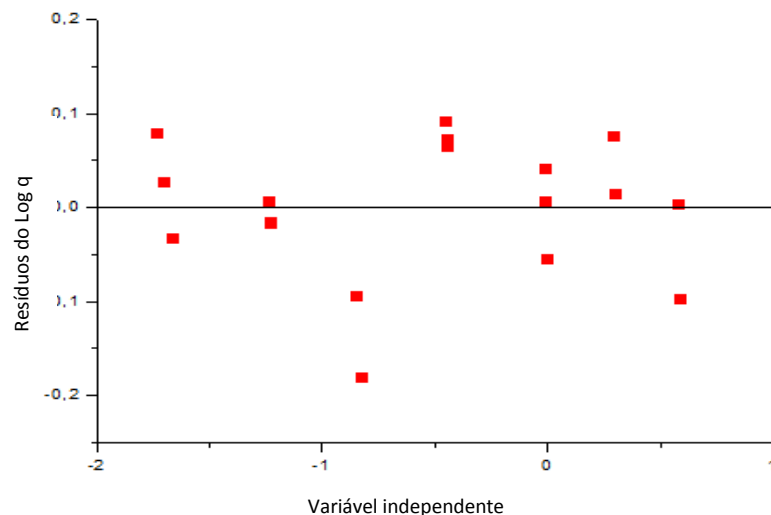
Figura 50 - Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de lantânio pela *Monoraphidium* sp., segundo o Modelo de Freundlich.



Fonte: O autor, 2013.

A figura 51 apresenta o gráfico de resíduos do modelo de Freundlich. Esse gráfico não revela qualquer problema sério em relação à desigualdade da variância e não apresenta tendências, aproximando-se mais de um padrão de comportamento ideal. Dessa forma, supõem-se que os erros estão distribuídos de forma aproximadamente normal, com variância constante, corroborando com o mais alto valor de  $R^2$  analisado. Assim, este modelo é útil e válido para explicar o mecanismo de adsorção da microalga pelo metal.

Figura 51 - Resíduos dos dados ajustados ao Modelo de Freundlich para o ensaio de equilíbrio da *Monoraphidium* sp. na remoção de lantânio.



Fonte: O autor, 2013.

Verificou-se a partir dos gráficos apresentados que a *Monoraphidium* sp. apresentou uma capacidade de remoção máxima em torno de  $20,7 \text{ mmol.g}^{-1}$  e que o modelo de Freundlich explicou melhor o mecanismo de remoção do metal da solução, fato verificado não apenas pelo coeficiente de determinação mas também pela análise dos gráficos de resíduos.

Uma análise comparativa entre as duas microalgas foi realizada a fim de se verificar o qual modelo de bioadsorção que melhor se aplicou, a capacidade máxima de bioadsorção e a

apresentação das constantes de Langmuir e Freundlich para cada uma delas e este análise comparativa encontra-se na tabela 10.

Tabela 10 - Constantes de Langmuir e de Freundlich na bioissorção do lantânio pela *Scenedesmus* sp. e pela *Monoraphidium* sp..

	Constantes de Freundlich			Constantes de Langmuir		
	R <sup>2</sup>	n	K <sub>F</sub>	R <sup>2</sup>	q <sub>max</sub> (mmol.g <sup>-1</sup> )	k <sub>L</sub> (L.mmol <sup>-1</sup> )
<i>Scenedesmus</i>	0,9119	2,0656	10,1002	0,9396	34,37	0,0580
<i>Scenedesmus</i>	Isoterma de equilíbrio q <sub>max</sub> = 17,77					
<i>Monoraphidium</i>	0,9663	1,9739	12,3384	0,9309	40,8163	0,5976
<i>Monoraphidium</i>	Isoterma de equilíbrio q <sub>max</sub> = 20,68					

Fonte: O autor, 2013.

Os valores de q<sub>max</sub> explicitados na tabela acima foram retirados das isotermas de equilíbrio das microalgas estudadas. Verificou-se, pelos coeficientes de determinação, que os dados obtidos para ambas as microalgas podem ser explicados pelos dois modelos, Langmuir e Freundlich pois estão muito próximos. Porém, devido ao fato de o q<sub>máx</sub> previsto pelo modelo de Langmuir ter sido muito diferente do valor observado na isoterma, pode-se suspeitar que o modelo não é, então, o mais adequado para explicar a captação do metal pelas microalgas. Dessa forma, para ambas as microalgas estudadas, se pode afirmar que, dos dois modelos, o que melhor explica é o de Freundlich, que prevê a formação de policamadas na superfície do bioissorvente. Esta hipótese, da formação de policamadas, também corrobora com os altos valores de q<sub>máx</sub> obtidos pelas isotermas de equilíbrio das duas microalgas estudadas.

Palmieri *et al.*(2000) estudaram num sistema em batelada a bioissorção do neodímio em soluções ácidas. Os ensaios foram conduzidos para bioissorventes diferentes, sendo um deles a microalga *Monoraphidium* sp. Para a determinação da isoterma de equilíbrio, utilizou-se 0,1 grama de bioissorvente e 40 mL de solução de neodímio nas faixas de concentração que variaram de 0,01 a 4,5 g.L<sup>-1</sup> (0,0694 a 31,25 mmol.L<sup>-1</sup>) em pH igual a 1,5. Chegou-se à conclusão de que a microalga *Monoraphidium* apresentou uma melhor capacidade de bioissorção (1511 mg.g<sup>-1</sup> ou 10,49 mmol.g<sup>-1</sup>), valor significativamente maior que para os outros bioissorventes avaliados: 313,7 mg.g<sup>-1</sup> para a levedura F (Baker's yeast), 89,1 mg.g<sup>-1</sup> para o fungo *Penicilium* sp.e 61,7 mg.g<sup>-1</sup> para o carvão ativado. Pode-se atribuir as diferenças

na captação do metal às diferenças de propriedades de cada bioissorvente tais como a estrutura, grupos funcionais e área superficial de cada um deles. De todos os bioissorventes testados a microalga apresentou os melhores resultados devido às características físicas e químicas da sua parede celular. A parede celular da microalga apresenta diversos ânions: amino, carboxila, fosfato e sulfato, que são possíveis sítios ligantes para a adsorção do metal.

Em outro estudo, Diniz e Volesky (2004) trabalharam com lantânio, európio e itérbio usando *Sargassum* sp.. Utilizaram 0,1 g de biomassa e 500 mL de solução metálica de 0,4 a 7,2 mmol.L<sup>-1</sup>, em 3 valores de pH: 3, 4 e 5. Verificaram que a maior captação ocorreu em pH 5 que foi de 1 mmol.g<sup>-1</sup> para o lantânio.

Palmieri (2001) conduziu a bioissorção com diferentes tipos de biomassa: microalga *Monoraphidium* sp., levedura, *Sargassum* sp. e fungo e a captação do metal decresceu, respectivamente, nesta ordem apresentada. Todas as biomassas demonstraram uma boa capacidade de reter érbio e itérbio, especialmente a microalga e a levedura.

Qing (2010) estudou a adsorção de lantânio trivalente em carvão de bambu. O autor verificou que a capacidade de adsorção do lantânio aumentou com o aumento do valor de pH. A maior capacidade de adsorção ocorreu em pH 7,5. Segundo o autor, os íons lantânio são inibidos em meio ácido e este fato pode ser atribuído à presença de íons H<sup>+</sup> competindo com os íons La<sup>3+</sup> pelos mesmos sítios de adsorção. Verificou também que o mecanismo de adsorção do lantânio trivalente seguiu o modelo de Freundlich e obteve assim valores de q igual a 215 mg.g<sup>-1</sup> a 298K.

### **3.5. Ensaio de bioissorção do cério.**

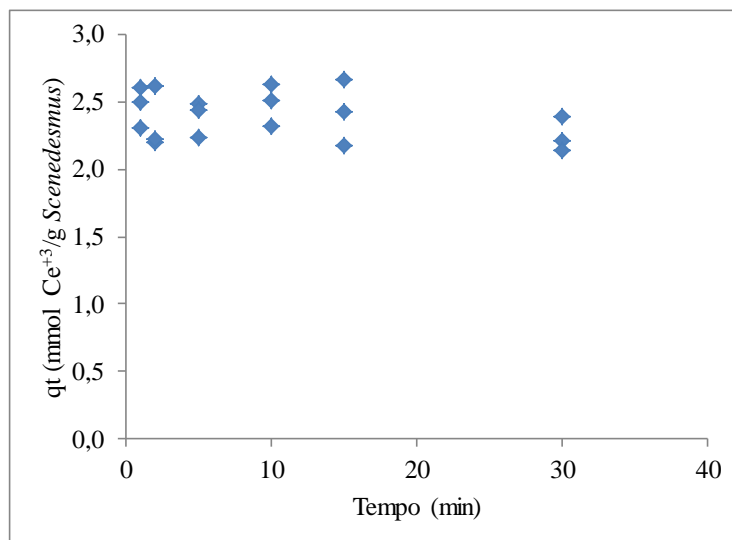
#### **3.5.1. Ensaio cinético da bioissorção do cério pela microalga livre *Scenedesmus* sp.**

A figura 52 mostra os resultados obtidos para os ensaios da cinética da bioissorção do cério pela microalga *Scenedesmus* sp. Tal estudo é relevante para se verificar o tempo necessário para o metal difundir do seio da solução para a superfície do bioissorvente e ficar lá retido, em equilíbrio, com o metal restante presente na solução. Para tanto se utilizou duas

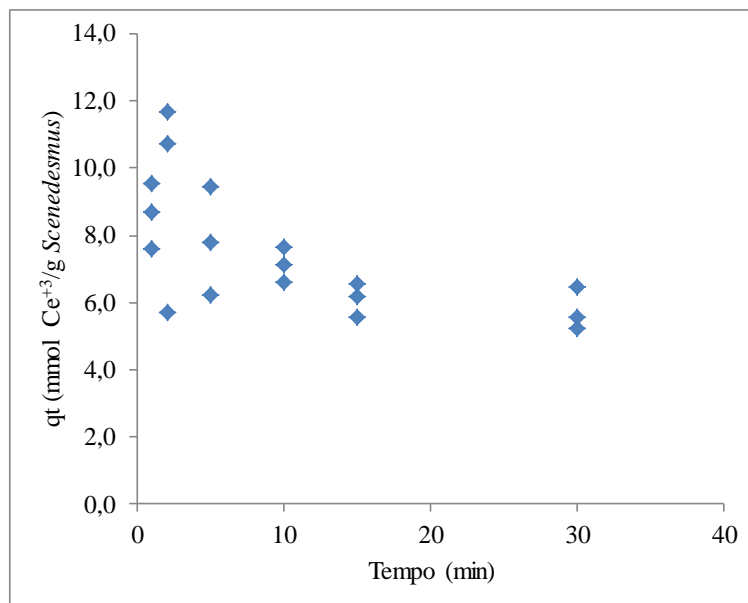
concentrações de solução de cério, uma mais diluída ( $10,547 \text{ mg.L}^{-1}$  ou  $0,075 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) e uma mais concentrada ( $98,051 \text{ mg.L}^{-1}$  ou  $0,700 \text{ mmol.L}^{-1}$ ).

A análise do gráfico representado na figura 52a revela que a captação do metal ocorreu logo nos primeiros cinco minutos, quando a solução de cério era diluída, onde o equilíbrio foi atingido, e, portanto, não foi possível modelar os dados para se verificar se a cinética seguia um modelo de pseudo-primeira ordem ou de segunda ordem. No entanto, na figura 52 b, que representa os dados da cinética de bioadsorção do cério quando a solução foi de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ , ou seja, mais concentrada, com mais íons metálicos em solução, o equilíbrio levou dez minutos para ser atingido mas também não foi possível modelar os dados. Partiu-se então para os ensaios de equilíbrio.

Figura 52 - Cinética de bioadsorção do cério pela *Scenedesmus* sp..



(a)



(b)

Legenda: (a) Solução de cério mais diluída ( $C_o = 0,075$  mmol/L) e b. Solução de cério mais concentrada ( $C_o = 0,700$  mmol/L)

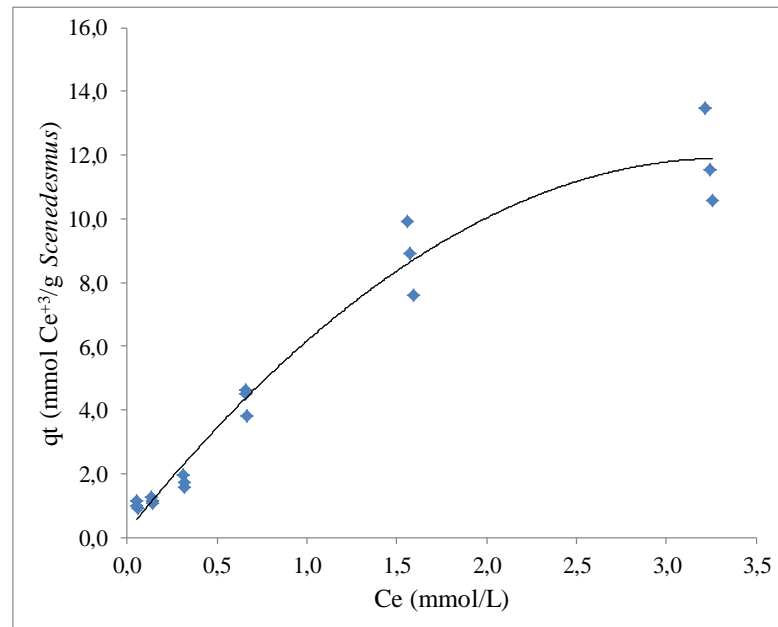
Fonte: O autor, 2013.

### 3.5.2. Ensaio de equilíbrio da biossorção do cério pela microalga *Scenedesmus* sp.

Diferentes concentrações de solução de cério foram utilizadas com concentrações que variaram de  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  ( $0,0714 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) até  $500 \text{ mg.L}^{-1}$  ( $3,568 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) para os ensaios de equilíbrio, cujos resultados estão representados na figura 53.

A figura 53 apresenta a Isoterma de Equilíbrio da microalga *Scenedesmus* sp. na remoção de cério. Observou-se que o máximo valor de  $q$  (mmol de  $\text{Ce}^{+3}$ /g de *Scenedesmus*) foi de  $11,5 \text{ mmol.g}^{-1}$ . A quantidade de biomassa utilizada foi de  $0,0007 \text{ g}$  (presentes no volume de  $1 \text{ mL}$  de suspensão microbiana utilizado).

Figura 53 - Isoterma de Equilíbrio representando a remoção do cério pela *Scenedesmus* sp.



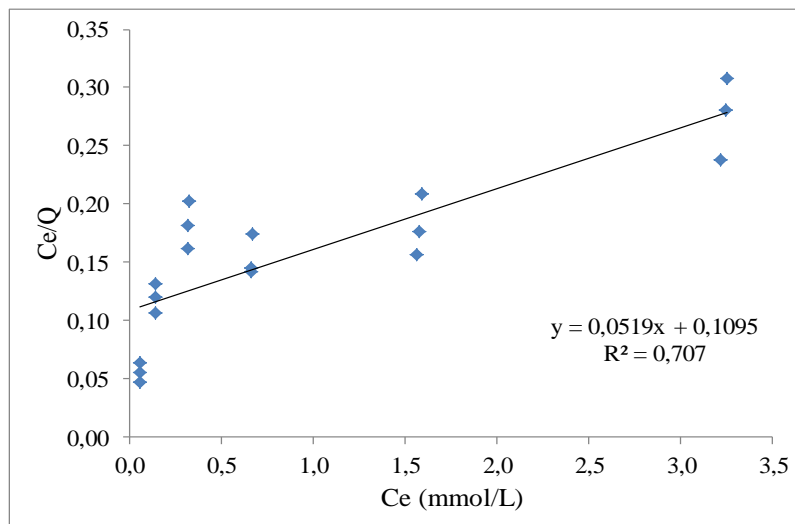
Fonte: O autor, 2013.

Com o objetivo de entender a capacidade da *Scenedesmus* como adsorvente do cério bem como o processo envolvido na captação do metal, os dados de equilíbrio foram avaliados de acordo com as isotermas de Langmuir e Freundlich.

A figura 54 apresenta os dados ajustados segundo o modelo de Langmuir para a biossorção do cério pela microalga *Scenedesmus*. Como se observou, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) baixo revela que os dados não se ajustam bem a este modelo.



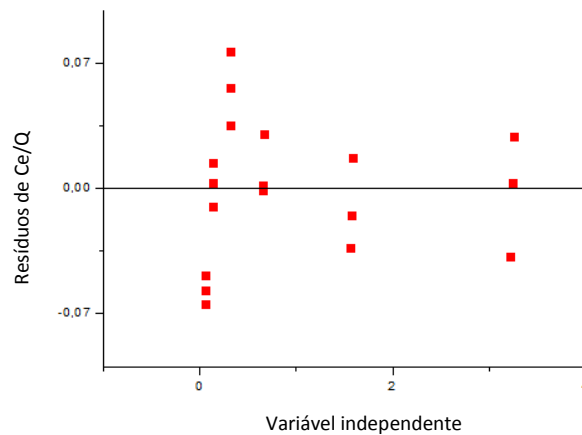
Figura 54 - Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção do cério pela *Scenedesmus* sp., segundo o modelo de Langmuir.



Fonte: O autor, 2013.

A fim de se confirmar a adequação ou não do modelo de Langmuir, um gráfico de resíduos dos dados foi construído como ferramenta estatística de análise. A figura 55 apresenta este gráfico.

Figura 55 - Resíduos dos dados ajustados ao modelo de Langmuir para o ensaio de equilíbrio da *Scenedesmus* sp. na remoção de cério.



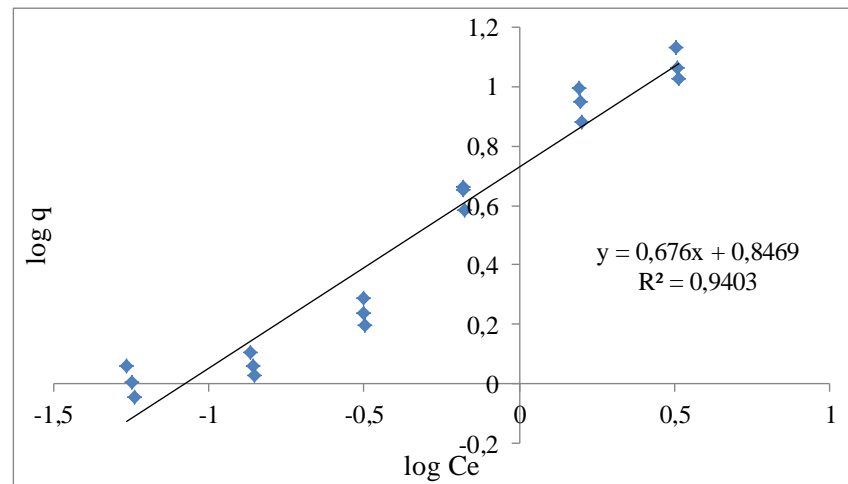
Fonte: O autor, 2013.

A análise do gráfico de resíduos apresentado na figura 55 também revela a não adequação do modelo.

O outro modelo que foi aplicado aos dados do ensaio de equilíbrio para o estudo dos mecanismos de adsorção do cério pela *Scenedesmus* foi o de Freundlich, representado na figura 56.

A análise da figura 56 revela através do ajuste dos dados para o modelo de Freundlich, alto coeficiente de determinação justificando a possível aplicabilidade deste modelo, que prevê a formação de policamadas do metal sobre a superfície do adsorvente.

Figura 56 - Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção do cério pela *Scenedesmus* sp., segundo o modelo de Freundlich.

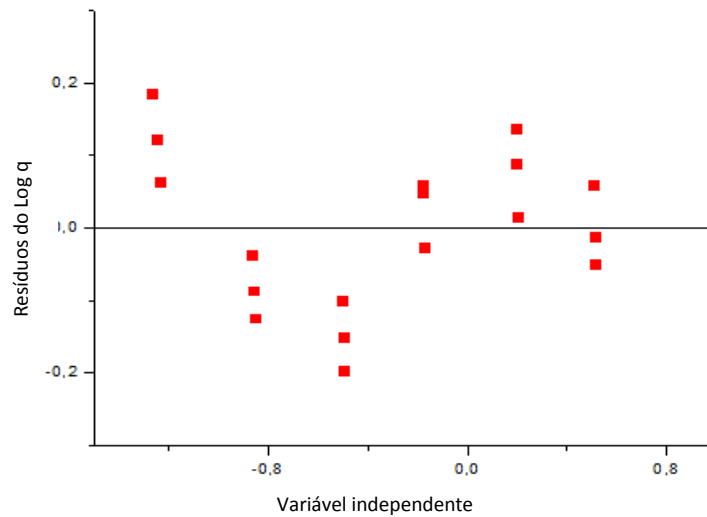


Fonte: O autor, 2013.

A figura 57 apresenta o gráfico de resíduos gerado a partir dos dados ajustados ao modelo de Freundlich.

A análise dos dados revela que o modelo de Freundlich realmente se ajusta melhor do que o de Langmuir, fato verificado anteriormente pelo valor de  $R^2$ . O gráfico de resíduos mostra menor desigualdade da variância, apresentando um padrão de comportamento mais próximo da idealidade.

Figura 57 - Resíduos dos dados ajustados segundo o modelo de Freundlich para o ensaio de equilíbrio da *Scenedesmus* sp. na remoção de cério.

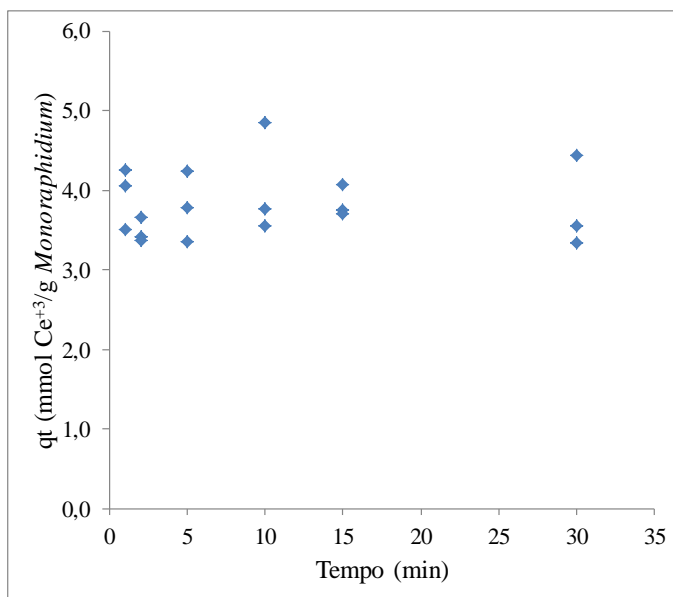


Fonte: O autor, 2013.

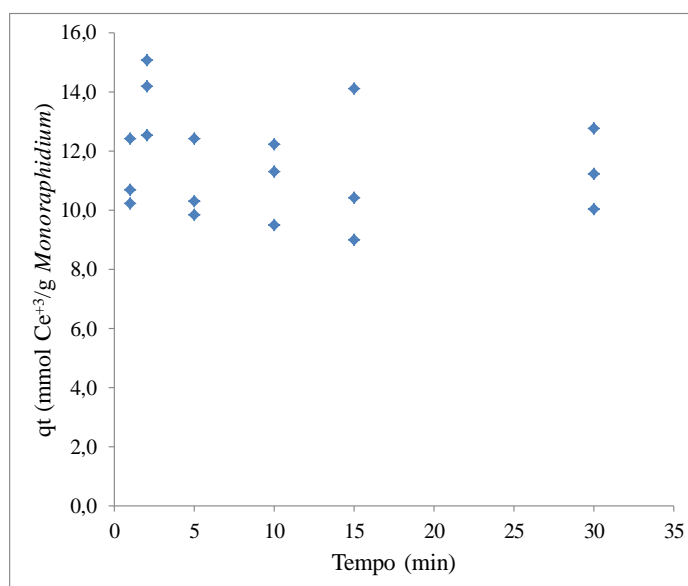
### 3.5.3. Ensaio cinéticos da bioadsorção do cério pela *Monoraphidium* sp.

A figura 58 apresenta os resultados dos ensaios cinéticos da bioadsorção do cério pela microalga *Monoraphidium* sp.. Observou-se que tanto para solução de cério mais diluída quanto para a mais concentrada, a captação do metal pela biomassa ocorreu nos primeiros minutos de ensaio. Por este motivo não se pôde modelar os dados para verificar se a cinética seguia o modelo de primeira ou de segunda ordem.

Figura 58 - Cinética de biossorção do cério pela *Monoraphidium* sp..



(a)



(b)

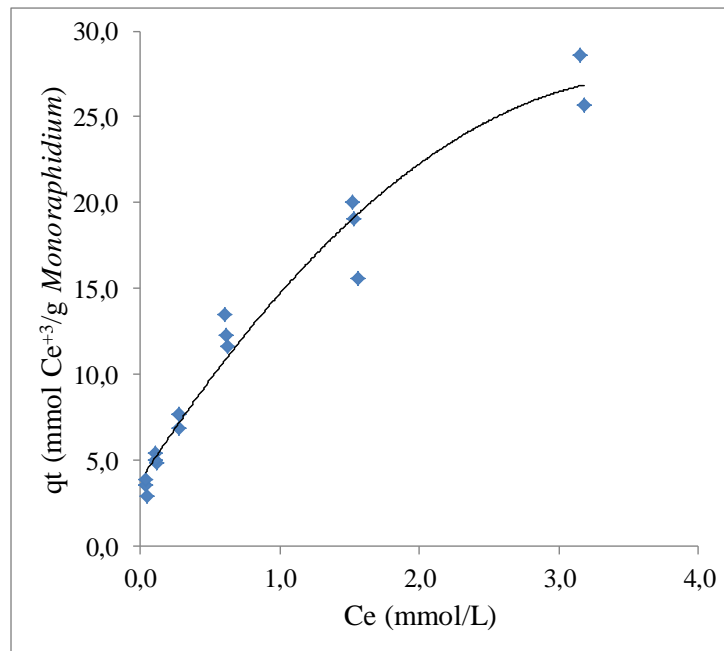
Legenda: (a) Solução de cério mais diluída ( $C_0 = 0,075 \text{ mmol.L}^{-1}$ )  
e (b) Solução de cério mais concentrada ( $C_0 = 0,700 \text{ mmol.L}^{-1}$ )

Fonte: O autor, 2013.

#### 3.5.4. Ensaio de equilíbrio da biossorção do cério pela *Monoraphidium* sp.

A figura 59 apresenta a isoterma de equilíbrio do cério pela *Monoraphidium* sp. observou-se que a captação do metal aumentou com o aumento da concentração inicial de cério na solução, até atingir o equilíbrio. O valor máximo de captação encontrado nas condições de ensaio utilizadas ficou em torno de 25 mmol.g<sup>-1</sup>.

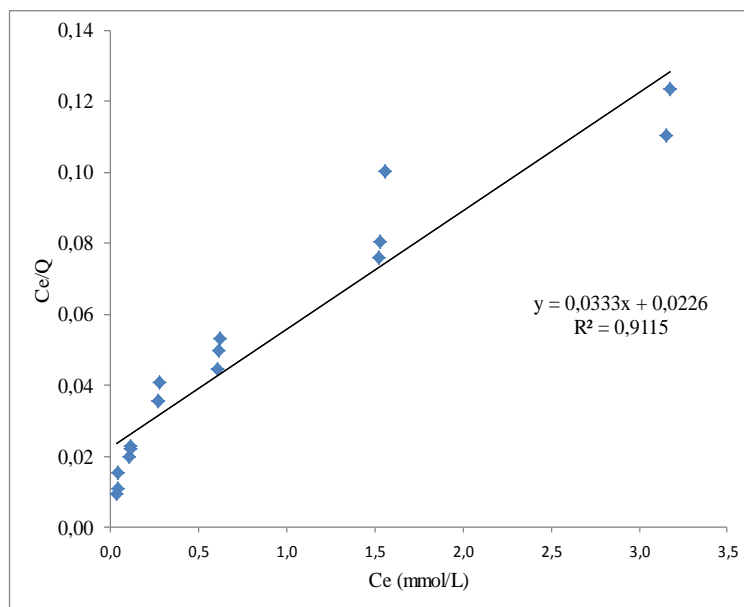
Figura 59 - Isoterma de equilíbrio representando a remoção do cério pela *Monoraphidium* sp.



Fonte: O autor, 2013.

Os dados foram ajustados segundo os modelos de Langmuir e Freundlich, como pode-se observar nas figuras 60 e 62, respectivamente.

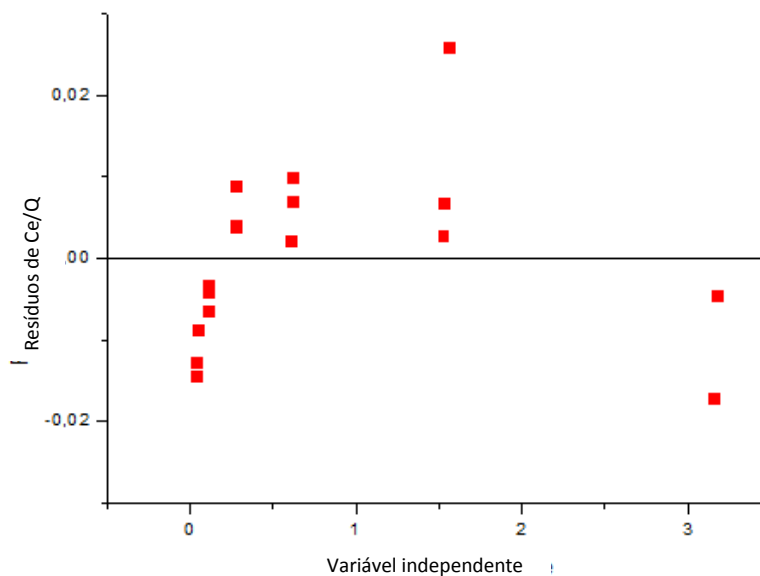
Figura 60 - Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção de cério pela *Monoraphidium* sp., segundo o modelo de Langmuir.



Fonte: O autor, 2013.

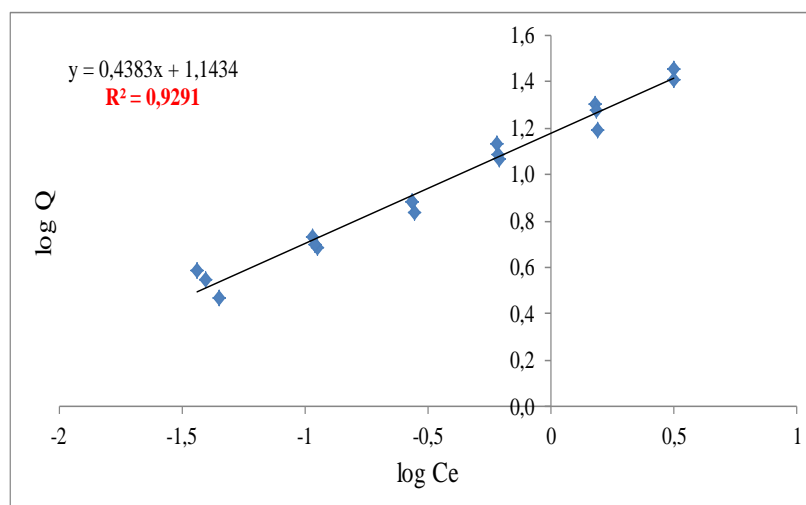
O gráfico de resíduos visualizado na figura 61 mostra que os pontos não estão distribuídos de forma aproximadamente normal de forma que apresentam uma tendência justificando a não aplicabilidade do modelo de Langmuir.

Figura 61 - Resíduos dos dados ajustados ao modelo de Langmuir para o ensaio de equilíbrio da *Monoraphidium* sp. na remoção do cério.



Fonte: O autor, 2013.

Figura 62 - Ajuste dos dados do ensaio de equilíbrio, na remoção do cério pela *Monoraphidium* sp., segundo o modelo de Freundlich.

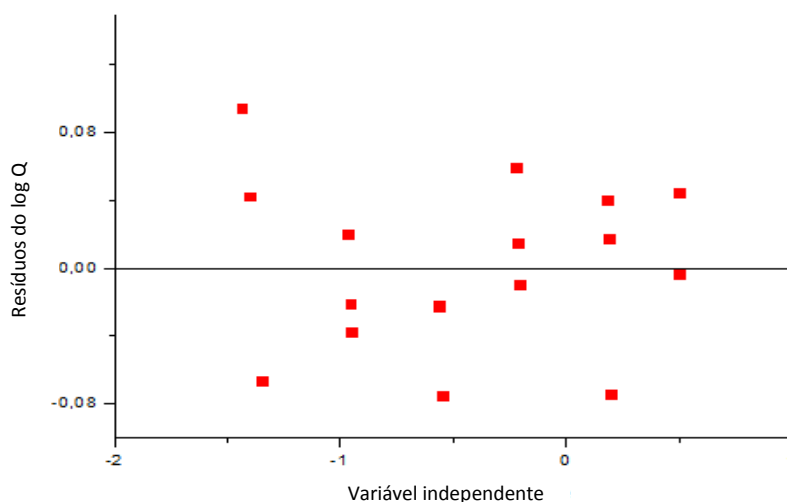


Fonte: O autor, 2013.



A análise dos gráficos revelou que os resultados se adequaram melhor ao modelo de Freundlich. Isto por que, como pode-se observar, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi ligeiramente maior, com os pontos repousando melhor sobre a reta. Além disso, o gráfico de resíduos, apresentado na figura 63, exibiu um comportamento próximo a uma situação ideal, ou seja, com maioria dos erros distribuídos de forma aproximadamente normal e com variância constante.

Figura 63 - Resíduos dos dados ajustados ao modelo de Freundlich para o ensaio de equilíbrio da *Monoraphidium* sp. na remoção de cério.



Fonte: O autor, 2013.

Tabela 11 - Constantes de Langmuir e de Freundlich na biossorção do cério pela *Scenedesmus* sp. e pela *Monoraphidium* sp..

	Constantes de Freundlich			Constantes de Langmuir		
	$R^2$	n	$K_F$	$R^2$	$q_{\max}(\text{mmol.g}^{-1})$	$k_L(\text{L.mmol}^{-1})$
<i>Scenedesmus</i>	0,9366	1,4793	5,3515	0,6887	9,1299	2,1116
<i>Scenedesmus</i>	Isoterma de equilíbrio $q_{\max}= 11,546$					
<i>Monoraphidium</i>	0,9741	2,1076	14,9500	0,9056	44,33	0,6774
<i>Monoraphidium</i>	Isoterma de equilíbrio $q_{\max}= 25,674$					

Fonte: O autor, 2013.

A tabela 11, resumidamente, revela que tanto para a *Scenedesmus*, quanto para a *Monoraphidium*, o mecanismo de captação do cério pelas microalgas verdes ocorreu segundo o modelo de Freundlich, que prevê a formação de polícamadas do metal na superfície do adsorvente. Tais resultados corroboraram com as análises realizadas dos gráficos de resíduos que foram apresentados a fim de se testar a adequação dos modelos.

Vijayaraghavan e Balasubramanian (2010) estudaram a habilidade da casca de caranguejo em bioissorver  $Ce^{3+}$  e  $Eu^{3+}$ , em sistemas isolados e em sistemas binários. As cascas dos caranguejos possuem carbonato de cálcio, proteína e quitina. Os experimentos revelaram que os íons carbonato causaram a microprecipitação dos elementos de terras raras e o subsequente depósito dos metais sobre a superfície da casca. O pH ótimo foi de 6, nos experimentos que foram conduzidos em batelada utilizando-se 100 mL de solução do elemento de terra rara e 0,5g de biomassa, a 23°C e sob agitação de 160 rpm. Nestas condições, a captação máxima, segundo o modelo de Langmuir, foi de 144,9  $mg.g^{-1}$  de cério e de 49,5  $mg.g^{-1}$  de európio.

Torab-Mostaedi *et al.* (2013) estudaram as características de bioissorção dos íons lantânio e cério por casca de *grapefruit*. Foi visto que o pH 5 foi o pH ótimo para a bioissorção e que, de acordo com o modelo de Langmuir a máxima captação de cério e de lantânio foi de 159,30  $mg.g^{-1}$  e de 171,20  $mg.g^{-1}$ , respectivamente. Análises de FTIR também revelaram que grupos carboxila e hidroxila estavam envolvidos na bioissorção de íons metálicos.

Kütahyalı *et al.* (2012) estudaram a bioissorção do cério (III) em pó de folha de *Pinus brutia* sob o regime de batelada. Verificaram que a captação do cério seguiu o modelo de Langmuir, com um valor de  $q_{max}$  de 62,1  $mg.g^{-1}$ , em pH 6 e temperatura de 20°C.

Não foi encontrado na literatura nenhuma das duas microalgas estudadas na remoção do cério. Verificou-se em todos os registros com outras biomassas que a massa de bioissorvente utilizada sempre foi bem maior que a do presente trabalho, justificando o alto valor de  $q_{max}$  encontrado nas isotermas deste trabalho.

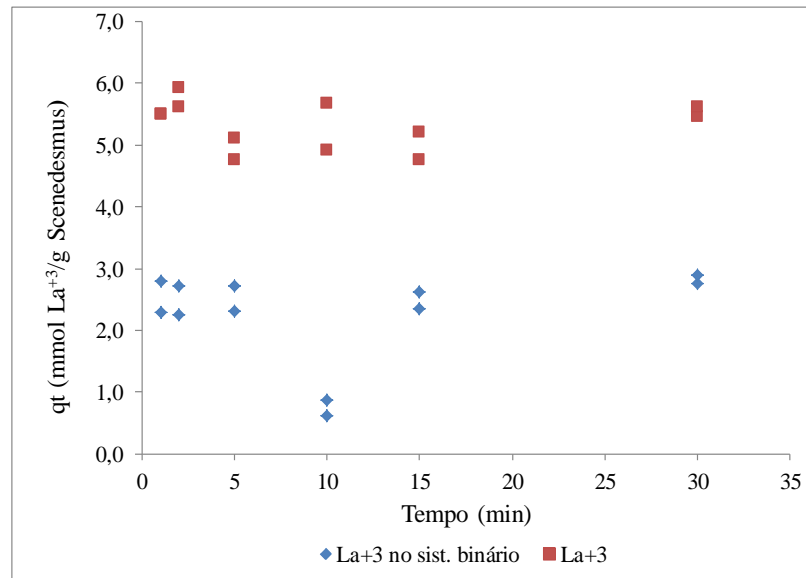
### **3.6. Ensaio de bioabsorção do cério e lantânio, quando em sistema binário, pelas microalgas *Scenedesmus* sp. e *Monoraphidium* sp.**

Realizou-se ensaios contendo cério e lantânio na mesma solução, em sistema binário, com os dois elementos presentes em quantidades equimolares, para avaliar se os metais são mais ou menos captados na presença do outro e qual deles é captado preferencialmente pelas microalgas estudadas. Para isso foram feitos ensaios cinéticos e também de equilíbrio.

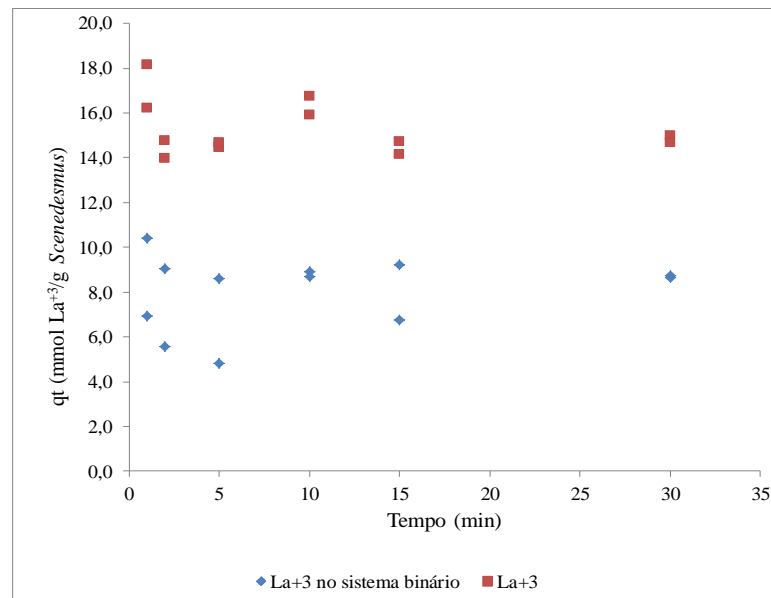
#### 3.6.1. Ensaio cinético da bioabsorção da *Scenedesmus* sp. em sistema binário contendo cério e lantânio

A figura 64 compara os resultados obtidos dos ensaios cinéticos da bioabsorção da *Scenedesmus* pelo lantânio em duas situações: quando o metal apresentava-se sozinho em solução e quando ele apresentava-se na presença de cério, na mesma solução, em quantidades equimolares (sistema binário). Na figura 64a os metais de terras raras estavam presentes em baixas concentrações ( $0,072 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $\text{La}^{3+}$  e  $0,0714 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{Ce}^{3+}$ ) e na figura 64b os metais estavam presentes em concentrações mais altas ( $0,72 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $\text{La}^{3+}$  e  $0,714 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{Ce}^{3+}$ ).

Figura 64 - Comparação dos ensaios cinéticos de bioissorção da *Scenedesmus* sp. pelo lantânio quando sozinho e quando em sistema binário.



(a)



(b)

Legenda: (a) Lantânio e cério em baixas concentrações ( $C_0=0,072 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $\text{La}^{3+}$  e  $C_0= 0,0714 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{Ce}^{3+}$ ) e (b) Lantânio e cério em altas concentrações ( $C_0= 0,72 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{La}^{3+}$  e  $C_0=0,714 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{Ce}^{3+}$ ).

Fonte: O autor, 2013.

Verificou-se nos resultados obtidos que, independente da concentração de  $\text{La}^{+3}$ , a captação do metal ocorreu nos primeiros minutos do ensaio, onde o equilíbrio foi atingido. No entanto, os resultados exibiram uma menor captação do lantânio quando ele estava na presença do cério. Este fato deve-se à competição dos metais lantânio e cério pelos mesmos sítios ligantes presentes na superfície do biossorvente.

A figura 65 apresenta os resultados dos ensaios cinéticos da biossorção da *Scenedesmus* pelo cério na ausência e na presença de lantânio. Observou-se que nos ensaios do sistema binário onde as concentrações dos metais foram mais baixas, a remoção do metal se deu logo nos minutos iniciais. No entanto, quando a concentração dos metais foram maiores, o equilíbrio demorou mais para ser atingido, após 10 minutos de contato, conforme observou-se nos resultados apresentados na figura 65b, onde estão presentes cério e lantânio em concentrações mais altas.

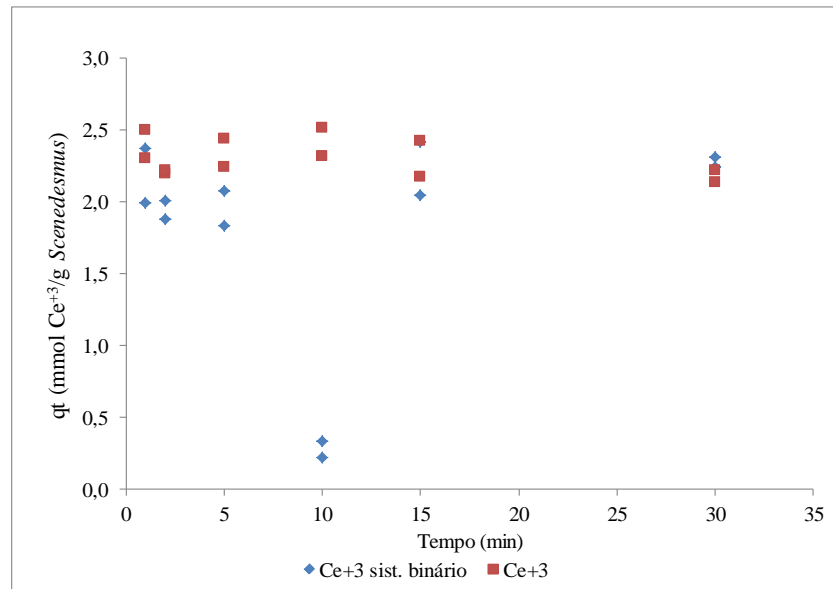
Através da análise dos resultados observou-se que, em todos os ensaios cinéticos, a biomassa exibiu o mesmo comportamento quanto ao tempo de equilíbrio na remoção dos metais das soluções e também a quantidade de metal removida foi bastante similar para ambos os metais, cério e lantânio, nestes ensaios.

Diniz e Volesky (2005) estudaram o mecanismo de captação de alguns elementos lantanídeos, La, Eu e Yb, quando presentes na mesma solução e verificaram que a troca iônica foi o mecanismo envolvido na remoção dos metais presentes em solução. Segundo os autores, para explicar a similaridade no comportamento de sorção dos metais de terras raras, é preciso observar suas estruturas eletrônicas. Por possuírem, os lantanídeos, três elétrons na camada mais externa apresentam similaridade dos seus comportamentos químicos e sabe-se que a forma mais comum dos íons destes dos elementos de terras raras é a trivalente. Assim, devido às reações de substituição envolverem geralmente os cátions grandes, tais como o cálcio ou estrôncio e, em conjunto com a sua valência elevada, eles tendem a ser segregados a partir de outros íons trivalentes.

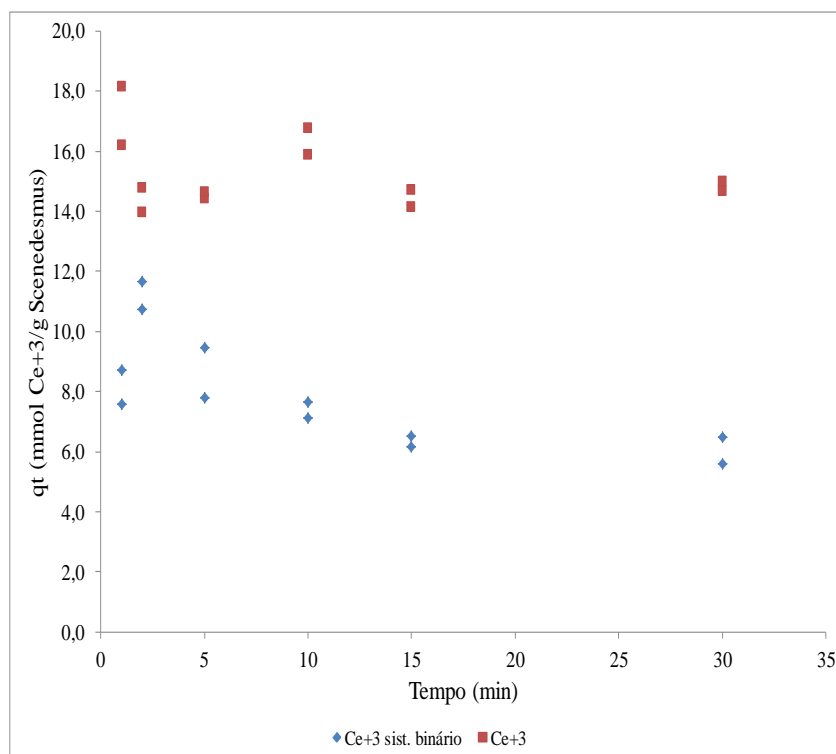
Sendo os lantanídeos considerados ácidos duros na terminologia de Pearson, os mesmos se ligarão preferencialmente com bases duras (as que contêm oxigênio como átomos doadores), e mais fracamente com bases moles (S ou P com doadores). Os ligantes dominantes devem conter pelo menos um átomo de oxigênio doador presentes em grupos

carboxílicos, por exemplo. Dessa forma, pressupõem-se que no presente trabalho, lantânio e cério provavelmente se ligaram a grupos carboxílicos presentes na parede celular das microalgas estudadas e, pelo fato de ambos os metais terem similaridades no comportamento químico, foram captados de forma muito parecida também nestes ensaios cinéticos preliminares.

Figura 65 - Comparação dos ensaios cinéticos de biossorção da *Scenedesmus* pelo cério quando sozinho e quando em sistema binário.



(a)



(b)

Legenda: (a) Cério e lantânio em baixas concentrações ( $Co=0,0713 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $Ce^{3+}$  e  $Co=0,072 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $La^{3+}$ ) e (b) Cério e lantânio em altas concentrações ( $Co = 0,713 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $Ce^{3+}$  e  $Co=0,72 \text{ mmol.L}^{-1}$   $La^{3+}$ ).

Fonte: O autor, 2013.

Finalmente, verificou-se que em todos os ensaios cinéticos utilizando a *Scenedesmus* como biossorvente, a captação do metal, quando presente sozinho em solução, foi maior que a captação do metal quando presente em sistema metálico binário. Isso porque quando ambos os elementos estão juntos, eles competem pelos mesmos sítios ligantes, decrescendo as capacidades de captação individual dos elementos que poderiam ser obtidas quando outros íons competidores não estivessem presentes no sistema.

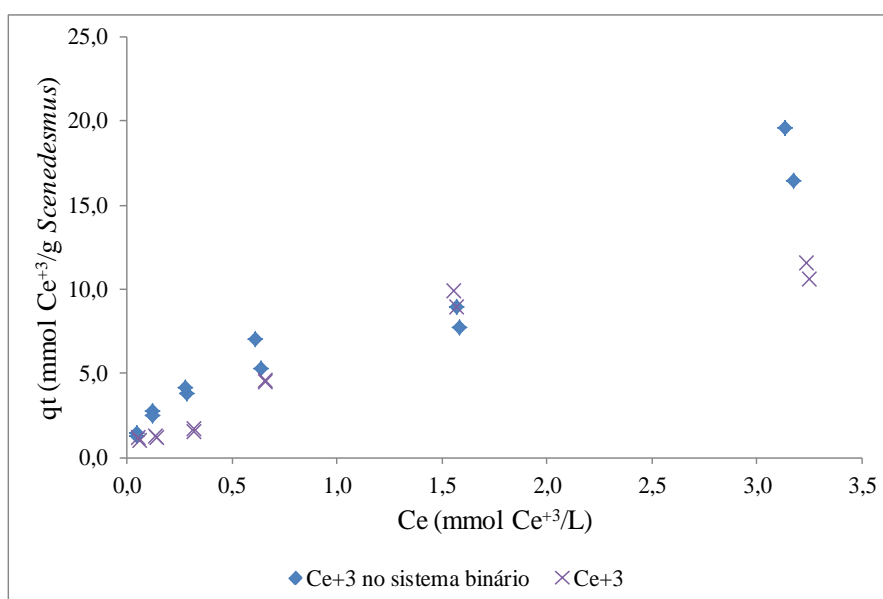
### 3.6.2. Ensaio da comparação do equilíbrio da bioadsorção da *Scenedesmus* pelos metais quando sozinhos e quando em sistema binário.

A figura 66 apresenta os resultados dos ensaios de equilíbrio realizados para a *Scenedesmus* como bioadsorvente variando-se as concentrações iniciais dos metais. Observou-se que tanto na bioadsorção do cério, quanto na do lantânio, a quantidade de metais adsorvidos na biomassa ( $\text{mmol.g}^{-1}$ ) aumentou com o aumento da concentração inicial dos íons metálicos.

Os resultados mostraram que a captação do cério, quando em sistema binário ocorreu de forma regular, ou seja, exibiu captação crescente com o aumento das concentrações iniciais do metal em solução. No entanto, a isoterma mostrou uma maior captação de cério (em altas concentrações iniciais dos metais) quando o cério estava em sistema binário. É de se esperar que o metal seja menos captado quando na presença de um outro metal na mesma solução devido à competição pelos mesmos sítios ligantes.

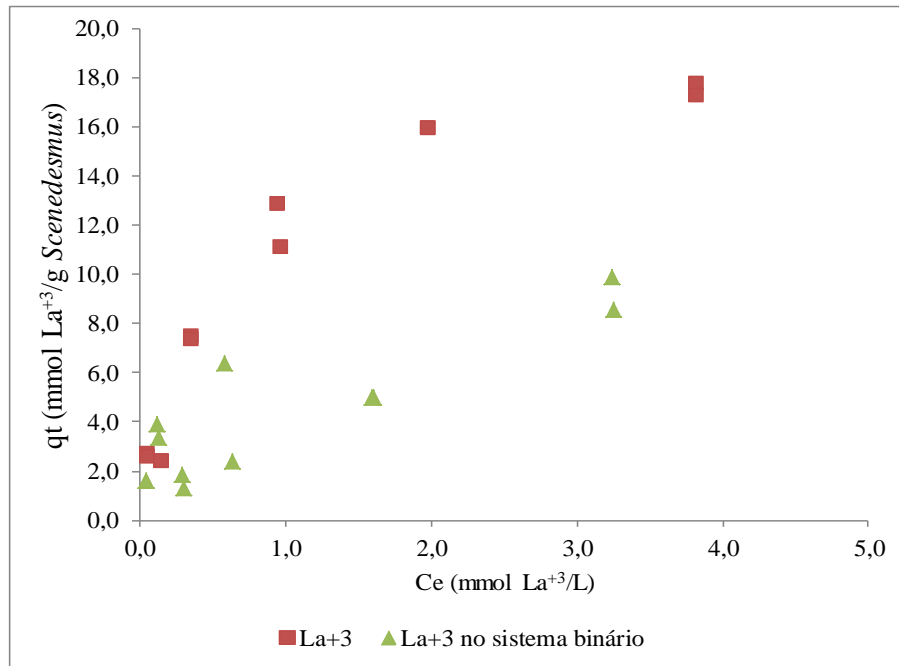
Na captação do lantânio, como se observou nos resultados apresentados na figura 66 b, a isoterma de equilíbrio apresentou menores valores de captação, em  $\text{mmol.g}^{-1}$ , quando o lantânio estava na presença do cério, conforme se é realmente esperado.

Figura 66 - Isotermas de equilíbrio da bioadsorção da *Scenedesmus* sp. pelo cério e pelo lantânio quando em sistema binário.





(a)



(b)

Legenda: (a) Captação do cério e (b) Captação do lantânio.

Fonte: O autor, 2013.

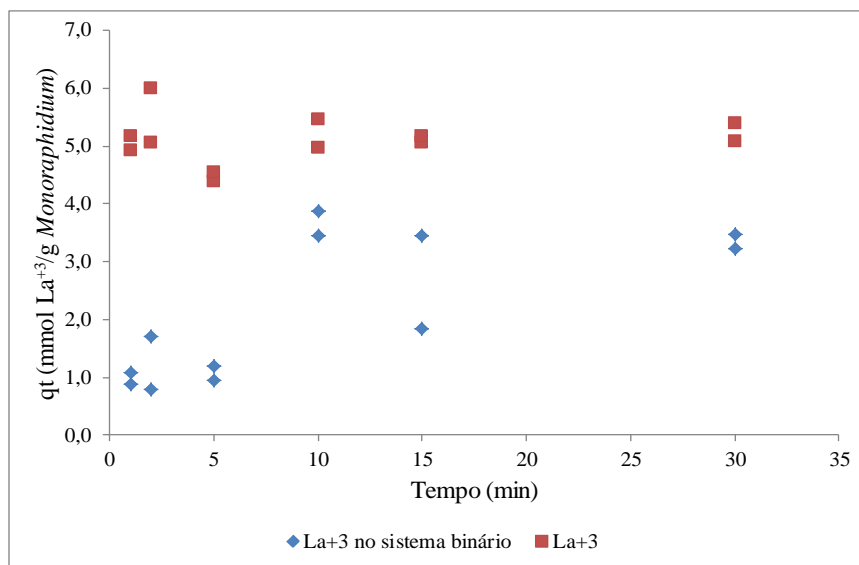
### 3.6.3. Ensaio cinéticos da bio sorção da *Monoraphidium* em sistema binário contendo Cério e Lantânio.

A figura 67 apresenta os resultados cinéticos da bio sorção do lantânio pela *Monoraphidium*, quando os metais estavam presentes em baixas concentrações (figura 67a) e em altas concentrações (figura 67b).

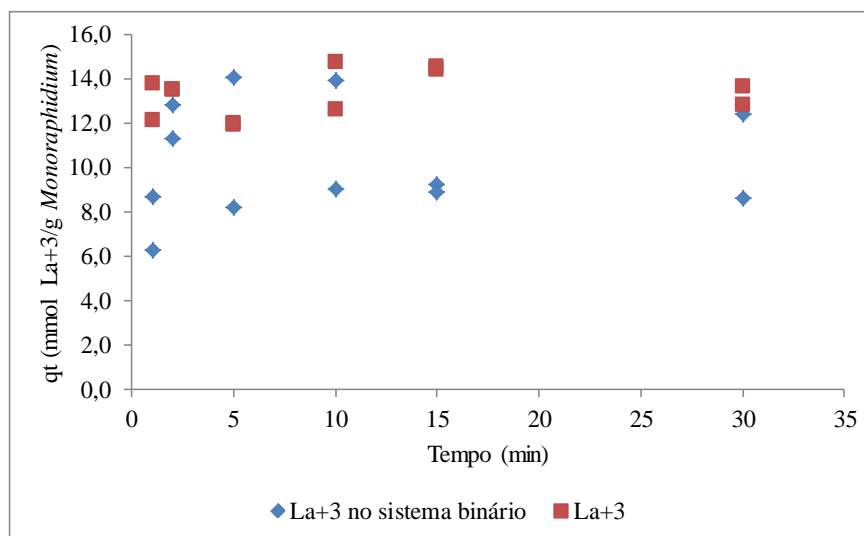
Os resultados apresentados nessas figuras mostraram que a capturação dos metais, quando sozinhos, ocorreu nos primeiros minutos. No entanto, na remoção do lantânio, quando em sistema binário, observou-se que o equilíbrio foi atingido após dez minutos. Este tempo

maior pode ser explicado pela efetiva competição entre os metais cério e lantânio pelos mesmos sítios ligantes da biomassa, gerando um tempo maior para que o equilíbrio seja, de fato, atingido. Além disso, verificou-se que quando o lantânio apresentou-se sozinho em solução, sua remoção foi maior do que em presença do cério e este resultado corrobora com a análise já revelada de que os metais competem realmente pelos mesmos sítios ligantes da biomassa.

Figura 67 - Comparação dos ensaios cinéticos de biossorção da *Monoraphidium* sp. pelo lantânio quando sozinho e quando em sistema binário.



(a)



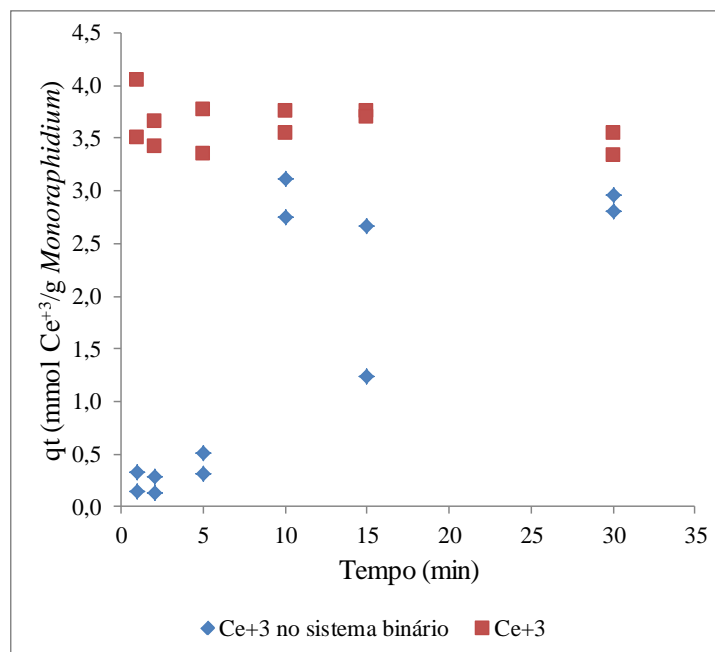
(b)

Legenda: (a) Cério e lantânio em baixas concentrações ( $Co=0,0713 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $Ce^{3+}$  e  $Co=0,072 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $La^{3+}$ ) e (b) Cério e lantânio em altas concentrações ( $Co = 0,713 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $Ce^{3+}$  e  $Co=0,72 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $La^{3+}$ ).

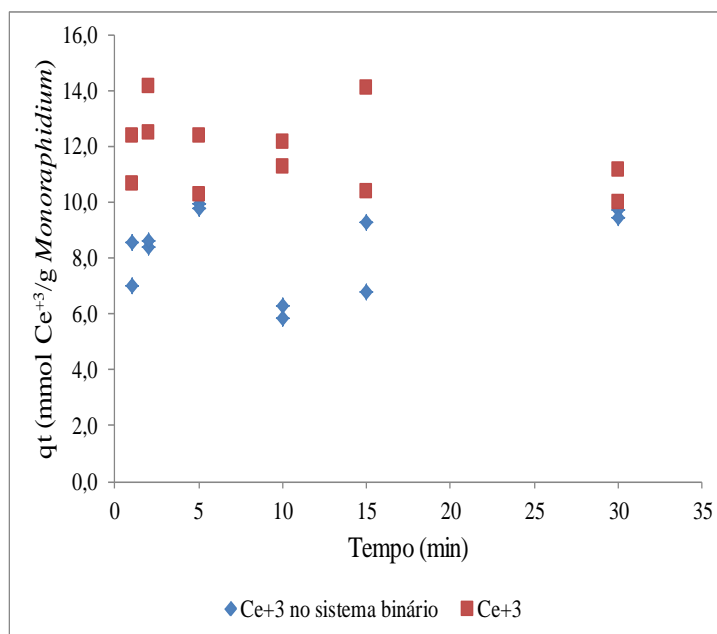
Fonte: O autor, 2013.

A figura 68 apresenta os resultados dos ensaios cinéticos da bioadsorção do cério quando sozinho e quando em sistema binário, na presença do lantânio, tanto em concentrações de metais mais baixas (figura 68a) quanto em concentrações de metais mais altas (figura 68b).

Figura 68 - Comparação dos ensaios cinéticos de bioadsorção da *Monoraphidium* pelo cério quando sozinho e quando em sistema binário.



(a)



(b)

Legenda: (a) Cério e lantânio em baixas concentrações ( $Co=0,0713$  mmol.L<sup>-1</sup> de Ce<sup>3+</sup> e  $Co=0,072$  mmol.L<sup>-1</sup> de La<sup>3+</sup>) e (b) Cério e lantânio em altas concentrações ( $Co = 0,713$  mmol.L de Ce<sup>3+</sup> e  $Co=0,72$  mmol.L La<sup>3+</sup>).

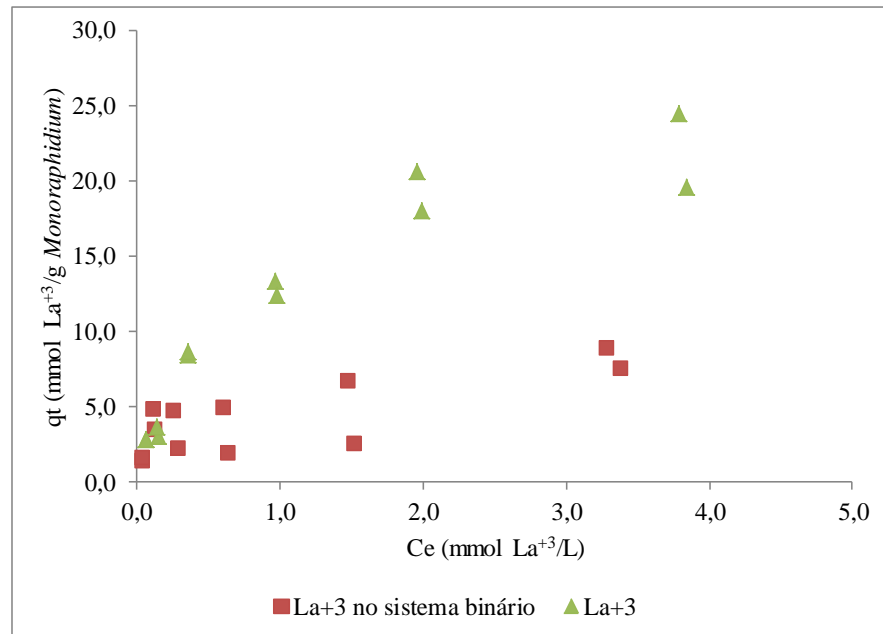
Fonte: O autor, 2013.

A análise dos resultados obtidos provou que a captação dos metais da solução pela *Monoraphidium* ocorreu, para as soluções mais diluídas, aproximadamente após dez minutos de contato, onde se verificou que o equilíbrio foi atingido. Já para as soluções de metais mais concentradas o equilíbrio foi atingido nos minutos iniciais. Tais evidências também já foram analisadas e discutidas quando o metal foi o lantânio.

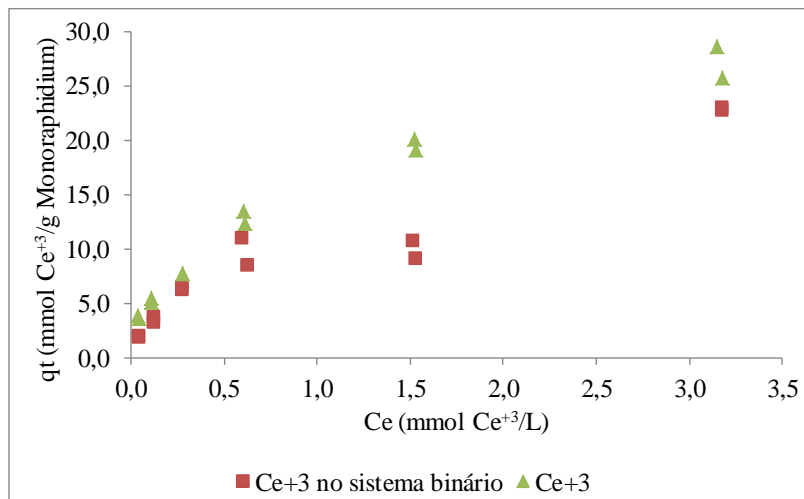
3.6.4. Ensaio da comparação do equilíbrio da bioadsorção da *Monoraphidium* pelos metais quando sozinhos e quando em sistema binário.

A figura 69 apresenta os resultados dos ensaios de equilíbrio da bioadsorção dos metais de terras raras pela *Monoraphidium*. Tais resultados são comparativos, verificando que a captação do metal, em  $\text{mmol.g}^{-1}$ , foi maior quando sozinho em solução.

Figura 69 - Isotermas de equilíbrio da bioadsorção da *Monoraphidium* pelo cério e lantânio, quando em sistema binário.



(a)



(b)

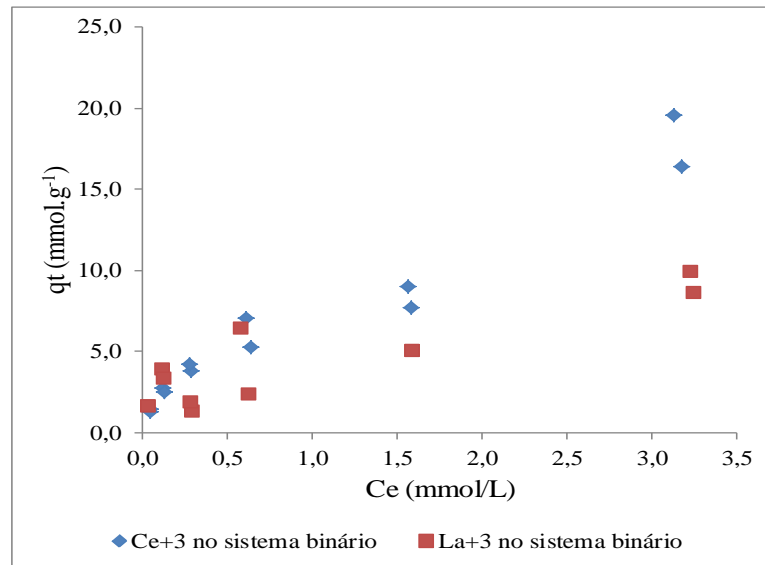
Legenda: (a) Captação do lantânio e (b) Captação do cério.

Fonte: O autor, 2013.

Observou-se que a biomassa apresenta o mesmo perfil de captação para ambos os metais. No entanto, a captação do cério na presença de lantânio foi ligeiramente maior que a captação do lantânio na presença do cério. Este fato não foi verificado quando apenas um dos elementos estava em solução. Dessa forma, parece que o cério, quando na presença do lantânio, é captado preferencialmente.

Para analisar tal ocorrência, construíram-se isotermas de equilíbrio comparando a captação dos dois metais cério e lantânio, quando em sistema binário, para as duas biomassas estudadas. Os resultados encontram-se apresentados nas figuras 70 e 71.

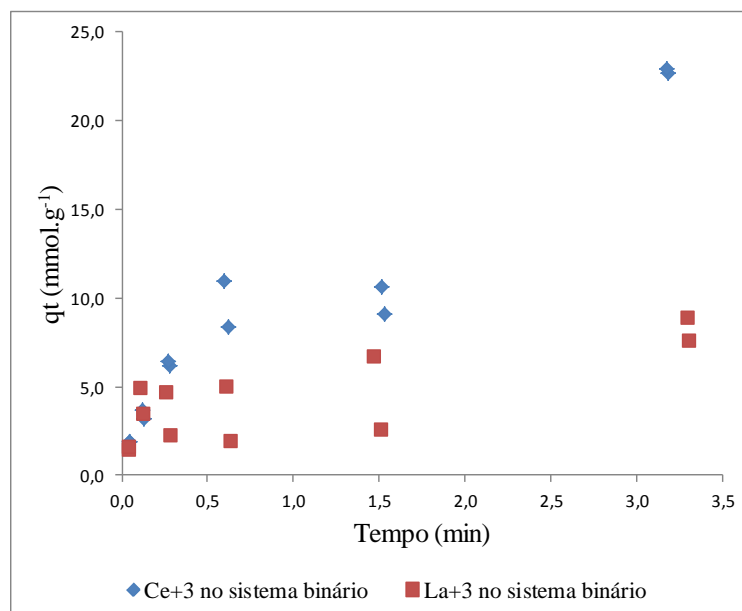
Figura 70 - Comparação das isotermas de equilíbrio da biossorção da *Scenedesmus* pelo cério e pelo lantânio quando presentes em sistemas binários.



Fonte: O autor, 2013.

A mesma comparação, com o gênero de microalga *Monoraphidium*, também foi realizada, e observou-se um perfil de captação, tanto para o cério quanto para o lantânio similar ao da outra microalga estudada, conforme apresentado na figura 71.

Figura 71 - Comparação das isotermas de equilíbrio da bioissorção da *Monoraphidium* pelo cério e pelo lantânio quando presentes em sistemas binários.



Fonte: O autor, 2013.

Nota-se que a captação do cério realmente foi maior que a do lantânio demonstrando que o cério foi captado preferencialmente. Isto porque em todos os ensaios realizados para ambas as biomassas, o valor de  $q_t$  para o cério sempre foi mais alto que o valor de  $q_t$  do lantânio. O cério foi bastante captado mesmo quando em sistema binário (figura 66a). Dessa forma, o que pode ter ocorrido foi uma deposição do metal sobre os sítios de adsorção, possivelmente em policamadas, que se intensifica com o aumento da concentração inicial de metais em solução.

A bioissorção do lantânio e cério a partir de soluções aquosas por pó de folha de *Plantanusorientalis* foi estudada por Sert *et al.*(2008). Neste estudo, verificaram que a captação foi crescente com o aumento da concentração inicial dos metais, mas a eficiência de bioissorção dos íons decresceu com o aumento da concentração inicial dos íons. Atribuiu-se a este fato à competição por sítios ligantes disponíveis na biomassa e também dos sítios de adsorção. Tais resultados também foram observados no presente trabalho.



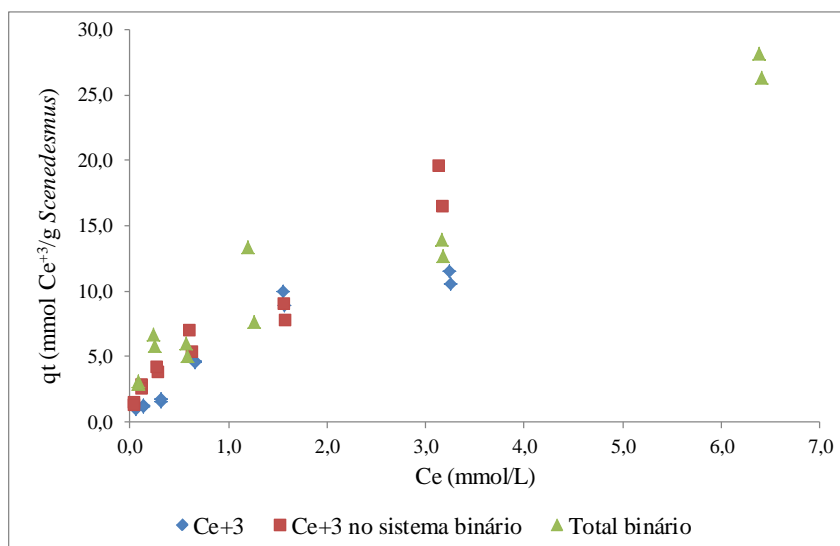
A partir da análise dos resultados das isotermas de equilíbrio apresentadas, observou-se que houve, para as duas biomassas estudadas, uma captação preferencial do cério com relação ao lantânio.

Segundo Diniz e Volesky (2005), as tendências de afinidade observados em seu trabalho, quando estavam presentes La, Eu e Yb sendo bioissorvidos pela *Sargassum* sp. não podem ser explicadas apenas pelas mudanças graduais das propriedades dos lantanídeos ao longo da série. Segundo os autores, uma explicação plausível para a sequência de afinidade obtida, é o parâmetro chamado de estrutura da água (“*waterstructure*”). Este parâmetro pode ser definido como o número médio de ligações de hidrogênio na qual a molécula da água participa. No gelo, este valor é 4, no vapor de água diluído, é zero e na água líquida, à temperatura ambiente, é aproximadamente 1,55. A estrutura da água nas proximidades do soluto é afetada pela sua presença. Alguns íons são quebradores de estrutura (“*structurebreakers*”) enquanto outros são formadores de estruturas (“*structuremakers*”). Íons com números menores que 0,1 são chamados de quebradores de estruturas e maiores que 0,1 são chamados de formadores de estruturas. Quanto maior este número, maioré o seu campo eletrostático e a estrutura de água ao redor dele tende a ser orientada centralmente. (Yizhak, 1997). Os autores observaram em seu experimento que o parâmetro estrutura da água para os lantanídeos examinados mostraram a mesma tendência, com valores de 0,75, 0,78 e 0,81 para európio, lantânio e itérbio, respectivamente. O mais baixo valor do parâmetro estrutura da água, por exemplo, significaria menor probabilidade de o íon ser um formador de estrutura e maior a afinidade do metal pelo bioissorvente. Por isso que a ordem de afinidade encontrada pelos autores foi Eu>La>Yb.

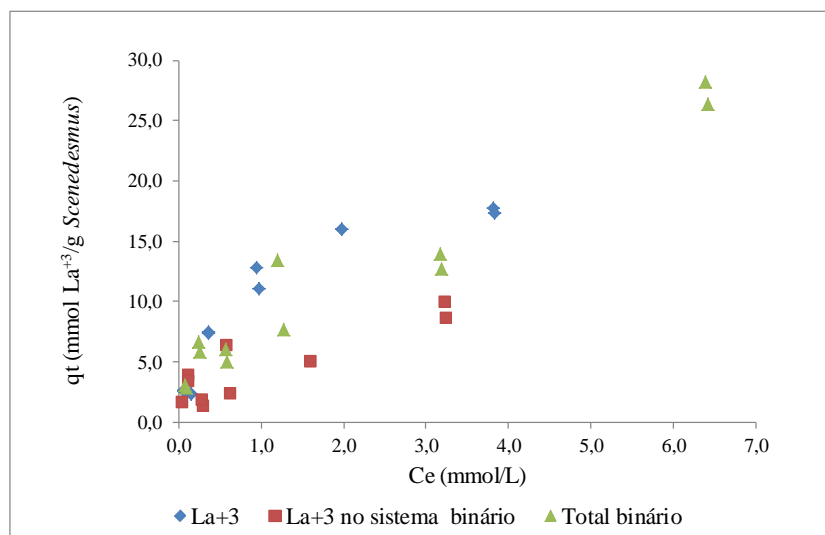
No presente trabalho observou-se uma maior afinidade, tanto da *Scenedesmus*, quanto da *Monoraphidium*, pelo cério. Ao se buscar o parâmetro estrutura da água para estes íons, verificou-se que o de cério é de 0,74 e o de lantânio é de 0,78. Sendo assim, como é menor o valor do cério, menor a chance do cério ser um íon formador de estrutura e então maior será a afinidade dele pelo bioissorvente.

Realizou-se também um estudo comparativo da captação total dos metais, quando em sistema binário, com a captação individual de cada metal quando sozinho e quando em sistema binário, conforme resultados apresentados nas figuras 72 (a e b) e 73 (a e b) para *Scenedesmus* e para *Monoraphidium*, respectivamente.

Figura 72 - Isotermas de adsorção dos metais cério e lantânio quando sozinhos e quando em sistema binário, comparadas à isoterma da captação total de ambos os metais quando em sistema binário, utilizando a *Scenedesmus* como bioissorvente.



(a)

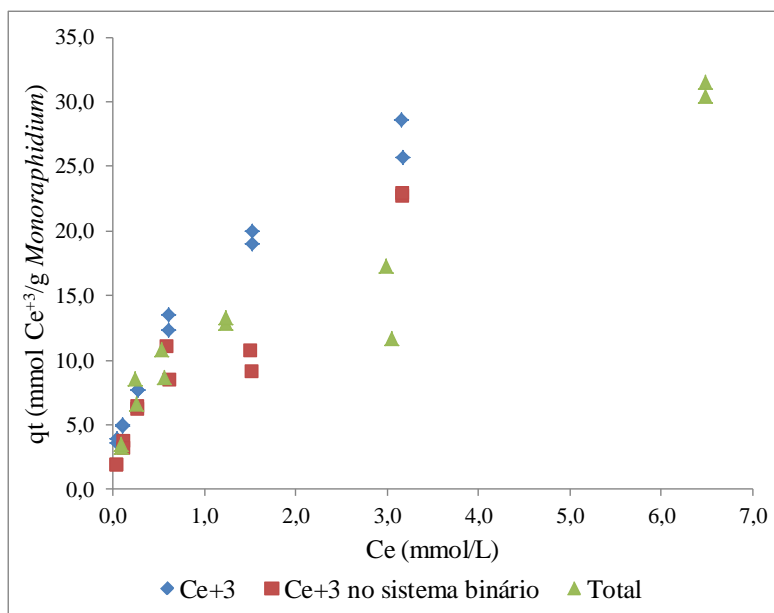


(b)

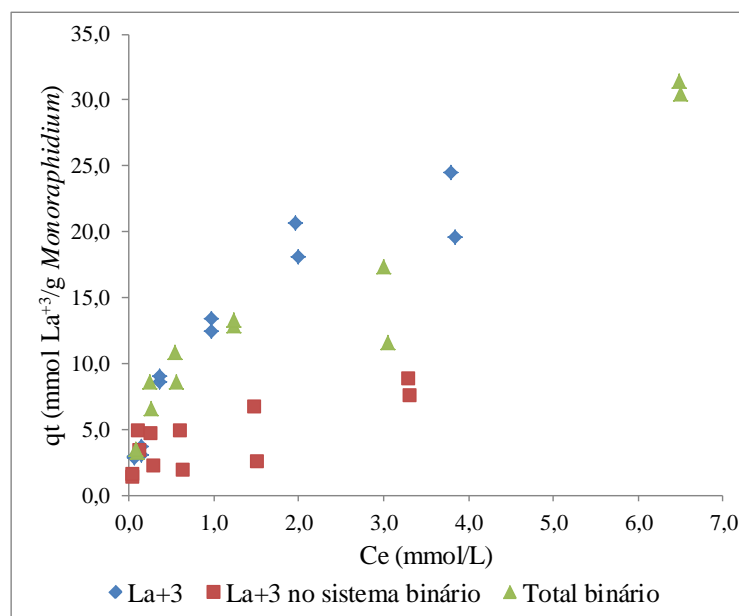
Legenda: (a) cério e (b) lantânio.

Fonte: O autor, 2013.

Figura 73 - Isotermas de adsorção dos metais cério e lantânio quando sozinhos e quando em sistema binário comparadas com a isoterma da captação total de ambos os metais quando em sistema binário, utilizando a *Monoraphidium* como biossorvente.



(a)



(b)

Legenda: (a) cério e (b) lantânio

Fonte: O autor, 2013.

No estudo de Diniz e Volesky, 2005, foi realizada uma análise no sistema multicomponente, La, Eu e Yb, e os autores verificaram que a captação do metal, quando sozinho em solução, era similar à captação total dos metais no sistema multimetálico. Já a captação do metal individualmente, quando presente no sistema multimetálico, possuía um valor de  $q_t$  bem mais baixo. Tal observação também foi obtida no presente trabalho.

No presente trabalho também foi verificado que o cério, no sistema binário, possui maiores valores de captação que o lantânio, para ambas as biomassas (*Scenedesmus*: 20 mmol  $Ce^{+3}.L^{-1}$  e 6 mmol  $La^{+3}.L^{-1}$  e *Monoraphidium*: 22 mmol  $Ce^{+3}.L^{-1}$  e 7 mmol  $La^{+3}.L^{-1}$ ) que se aproxima até dos níveis de captação total dos metais no sistema binário (entre 12-25 mmol  $Ce^{+3}+La^{+3}/g$  para a *Scenedesmus* e entre 17-30 mmol  $Ce^{+3}+La^{+3}/g$  para *Monoraphidium*). Tais observações corroboram com as análises anteriores já realizadas no presente trabalho que mostraram que as biomassas possuem uma maior afinidade pela adsorção do cério e também com a análise de que o mecanismo de captação do cério melhor se explica pelo modelo de Freundlich.

## CONCLUSÕES

Neste estudo verificou-se a boa capacidade que as microalgas verdes dos gêneros *Monoraphidium* sp. e *Scenedesmus* sp. exibem na captação de lantânio e cério.

As microalgas verdes foram sensíveis à presença do lantânio em concentrações maiores que 25 mg.L<sup>-1</sup>. Na concentração de 10 mg.L<sup>-1</sup>, as microalgas não apresentaram sinais de sensibilidade. Em concentrações elevadas de lantânio (50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>) o crescimento celular se mostrou bastante prejudicado, verificando-se até a morte das células para ambos os gêneros estudados.

Os ensaios de bioacumulação, nas condições em que foram conduzidos, apresentaram relação direta com os ensaios de toxicidade, onde as microalgas demonstraram sensibilidade ao lantânio em concentração acima de 25mg.L<sup>-1</sup>. Não foi possível concluir sobre os mecanismos de remoção do metal, se por bioacumulação ou simplesmente biossorção. Dessa forma, melhor é afirmar que houve uma bioconcentração do metal principalmente nas concentrações de 10 e 25 mg.L<sup>-1</sup>.

Verificou-se também nestes ensaios de bioconcentração que a *Monoraphidium* conseguiu captar mais metal que a *Scenedesmus* visto a remoção do lantânio pela *Monoraphidium* ficou em torno de 80% e pela *Scenedesmus* ficou em torno de 46% quando a concentração de lantânio foi de 10 mg.L<sup>-1</sup>. Em todas os outros valores de concentração de lantânio, também foi maior a captação do metal pela *Monoraphidium* do que pela *Scenedesmus*. Tal característica pode ter relação direta com a morfologia das microalgas, visto que a *Monoraphidium* apresenta maior superfície de contato que a *Scenedesmus*.

Nos ensaios de biossorção do lantânio, quando sozinho em solução, pelas microalgas verificou-se que a captação do metal ocorreu logo nos primeiros minutos. O gênero *Monoraphidium* apresentou um  $q_{\max}$  de 20,6 mmol.L<sup>-1</sup> e o gênero *Scenedesmus* apresentou um  $q_{\max}$  de 17,7 mmol.L<sup>-1</sup>. O modelo que melhor explicou a adsorção do metal foi o de Freundlich que prevê a formação de policamadas na superfície do metal, nos ensaios com ambas microalgas.

Nos ensaios de biossorção do cério, quando sozinho em solução, pelas microalgas verificou-se que a captação do metal ocorreu logo nos primeiros minutos. O gênero *Monoraphidium* apresentou um  $q_{\max}$  de 25,6 mmol.L<sup>-1</sup> e o gênero *Scenedesmus* apresentou um  $q_{\max}$  de 11,5 mmol.L<sup>-1</sup>. O modelo que melhor explicou a adsorção do metal para ambas as microalgas também foi o de Freundlich.

Já nos ensaios onde os dois metais estavam juntos presentes em solução, em sistema binário, observou-se que houve competição entre eles pelos mesmos sítios ativos presentes na superfície das microalgas, diminuindo a captação individual de cada elemento.

Ainda nos ensaios que envolveram o sistema binário, verificou-se que as microalgas apresentam maior afinidade pelo cério do que pelo lantânio.

Por fim pode-se concluir que as microalgas são capazes de remover cério e lantânio de soluções aquosas diluídas e que, comparativamente com outras biomassas verificadas na literatura, possuem boa capacidade de remoção.

Dentre as duas espécies estudadas, a *Monoraphidium* exibiu maior capacidade de bioconcentração dos metais.

### **Sugestões para trabalhos futuros**

Reconduzir os ensaios de bioconcentração utilizando outros tipos de análises microscópicas como a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) associada a EDX (*Energy Dispersive x-ray spectrometer*), afim de se estudar mais minuciosamente as características da superfície celular e o interior da célula para se verificar, por meio desta análise, se o metal de terras raras é captado ativamente para dentro da célula ou se ele fica aderido apenas na superfície da célula.

Reconduzir os experimentos utilizando-se volumes maiores de suspensão microbiana a fim de se verificar, com maior precisão, a capacidade das biomassas em captar metais de terras raras estudados.

Proceder a dessorção para constatação ou não da entrada no metal na célula.

Utilizar outros metais de terras raras, em sistema multimetálico, na condução dos experimentos de biossorção, simulando assim uma condição mais próxima das condições dos corpos aquáticos naturais contaminados por tais metais.

## REFERÊNCIAS

AHUJA, P.; GUPTA, R.; SAXENA, R. K. Zn<sup>2+</sup> biosorption by *Oscillatoria angustissima*. **Process Biochemistry**, Nova Deli, Índia, v. 34, n. 1, p. 77-85, jan. 1999.

AKSU, Z. Equilibrium and kinetic modelling of cadmium (II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature. **Separation and Purification Technology**, Ankara, Turquia, v. 21, n. 3, p. 285-294, jan. 2001.

BATES, S.S. Zinc adsorption and transport by *Chlamydomonas variabilis* and *Scenedesmus subspicatus* (Chlorophyceae) grown in semicontinuous culture. **Journal of Phycology**, [s.l.] v. 18, p. 521-529, 1982.

BERTUOL, D. A. **Recuperação do níquel cobalto e terras raras de baterias níquel metal hidreto**. 2007. 175 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais)- Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

CHEN, C., CHANG H., KAO, P., PAN J., CHANG, J., Biosorption of cadmium by CO<sub>2</sub>-fixing microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Biosource Technology**, Tainan, Taiwan, v. 105, p. 74-80, 2012 *apud* YU, Q.M., MATHEICAL, J.T., YIN, P.H., KAEWSARN, P. Heavy metal uptake capacities of common marine macroalgal biomass. **Water resource**, [s.l.], v. 33, n. 6, p. 1534-1537, 1999.

CIÊNCIA HOJE São Paulo: SBPC, v. 52, n. 310, dez 2013.

CRUZ, C. C. V.; DA COSTA, A. C. A.; HENRIQUES, C. A.; LUNA, A. S. Kinetic modeling and equilibrium studies during cadmium biosorption by dead *Sargassum* sp. Biomass. **Bioresource Technology**, Rio de Janeiro, Brasil, v. 91, n. 3, p. 249-257, fev. 2004.

d'AQUINO, L.; PINTO, M. C.; NARDI, L.; MORGANA, M.; TOMMASI, F. Effect of some light rare earth elements on seed germination, seedling growth and antioxidant metabolism in *Triticum durum*. **Chemosphere**. Napoli, Italy, v. 75, p. 900-905, febr 2009.

DAS, N.; DAS, D. Recovery of rare earth metals through biosorption: An overview. **Journal of Rare Earths**, Vellore, Índia, v. 31, n. 10, p. 933, out. 2013.



TEWARI, N., VASUDEVAN P., GHUA, B.K., Study on biosorption of Cr(VI) by *Mucor hiemalis*, **Biochemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 23, p.185.

DAVIS, T. A.; VOLESKY, B.; MUCCI, A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. **Water Research**, Montreal, Canadá, v. 37, n. 18, p. 4311-4330, nov. 2003.

EMMANUEL, E.S.C., ANATHI, T.; ANANDKUMAR, B.; MARIMUTHU, S. Accumulation of rare earth elements by siderophore forming *Arthrobacter luteolus* isolated from rare earth environment of Chavara, India. **Journal Bioscience**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.25, 2012.

ESPOSITO, A.; PAGNANELLI, F.; LODI, A.; SOLISIO, C.; VEGLIÒ, F. Biosorption of heavy metals by *Sphaerotilus natans*: an equilibrium study at different pH and biomass concentrations. **Hydrometallurgy**, Itália, v. 60, n. 2, p. 129-141, 2001.

EVANS, C. H. Interesting and useful biochemical properties of lanthanides. **Trends in Biochemical Sciences**, Pittsburgo, EUA, v. 8, n. 12, p. 445-449, dez. 1983.

FU, F.; WANG, J. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 3, p. 407-418, mar. 2001.

GORHAM, P. R.; MCLACHLAN, J.; HAMMER, U. T.; KIM, W. K. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Breb. Verh. **Internat. Verein. Limnol.**, Estugarda, Alemanha, v. 15, p. 796-804, 1964.

GOYAL, N.; JAIN, S. C.; BANERJEE, U. C. Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals. **Advances in Environmental Research**, Chandigarh, Índia, v. 7, n. 2, p. 311-319, jan. 2003.

GUO, P.; WANG, J.; LI, X.; ZHU, J.; REINERT, T.; HEITMANN, J.; SPEMANN, D.; VOGT, J.; FLAGMEYER, R. -H.; BUTZ, T. Study of metal bioaccumulation by nuclear microprobe analysis of algae fossils and living algae cells. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, China, v. 161, p. 801-807, 2000.

HAO, S; XIARONG, W; LIANSHENG, W. Bioconcentration of rare earth elements lanthanum, gadolinium and yttrium in algae (*Chlorella vulgarize* Beijerinck): influence of chemical species. **Chemosphere**, Nanjing, China, v. 34, n. 8, p. 1753-1760, 1997.

HASKIN, L.A.; PASTER, T. P. Handbook on Physics and Chemistry of Rare Earth Elements, v.3, K.A.Gschneider, Jr and L. Eyring (eds), North-Holland Publ. Company, 1979.

HU, Q. H.; GUAN, L.L., YE, Z.J. Effects of rare earth elements on growth and reproduction of *Chlorella pyrenoides*. **Environmental Science**, China, v. 17, n. 2, p. 37-38, 1996.

HU, Z.; RICHTER, H.; SPAROVEK, G.; SCHUNG, E. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: a review. **Journal of Plant Nutrition**, [s.l.], v. 27, p.183 – 220, 2004.

JELINEK, L.; YUEZHOU, W., KUMAGAI, M., Adsorption of Ce(IV) anionic nitrate complexes onto anion exchangers and its application for Ce(IV) separation from Rare Earths (III). **Journal of Rare Earths**, v. 24, p. 385-391, 2006.

JIN, X.; CHU, Z.; YAN, F.; ZENG, Q. Effects of lanthanum(III) and EDTA on the growth and competition of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda*. **Limnologica**, Beijing, China, v. 39, n. 1, p. 86-93, febr 2009.

KALIN, M.; WHEELER, W. N.; MEINRATH, G. The removal of uranium from mining waste water using algal/microbial biomass. **Journal of Environmental Radioactivity**, Toronto, Canada, v. 78, p. 151-177, 2005.

KARTHIKEYAN, S.; BALASUBRAMANIAN, R., Evaluation of the marine algae *Ulva fasciata* and *Sargassum* sp. for the biosorption of Cu(II) from aqueous solutions. **Bioresource Technology**, Singapore, v.98, p. 452-455, jan 2007.

KONDO, K., KAMIO, E. Separation of rare earth metals with a polymeric microcapsule membrane. **Desalination**, China, v.144, n. 1-3, p. 249-254, sept2002.

KORENEVSKY, A. A.; SOROKIN, V. V.; KARAVAIKO, G. I. Biosorption of rare earth elements. **Process Metallurgy**, Moscow, Rússia, v. 9, p. 299-306,1999.

KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B. Advances in the biosorption of heavy metals. **Trends in Biotechnology**, [s.l.], v. 16, n. 7, p. 291-300, jul. 1998.

KÜTAHYALI, C.; SERT, S.; ÇETINKAYA, B.; YALÇINTAS, E.; ACAR, M. B.; Biosorption of Ce (III) onto modified *Pinus brutia* leaf powder using central composite design. **Wood Scienc Technology**, Izmir, Turkey, v. 46, p. 721-736, 2012.

LI, X.; PING, X.; XIUMEI, S.; ZHENBIN, W., LIQIANG, X. Toxicity of cypermethrin on growth, pigments and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus*. **Ecotoxicological Environmental Safe**, [s.l.], v. 60, p. 188-192, 2005.

LIN, J. H.; KAO, W. C.; TSAI, K. P. A novel algal toxicity testing technique for assessing the toxicity of both metallic and organic toxicants. **Water Resource**, [s.l.], v. 39, p. 1869-1877, 2005.

LIN, J.; LI, T.; SHEN, H.; ZHENG, Z.-H.; ZHOU, P.-J.; SONG, L.-R.; SHEN, Y. -W., LIU, Y.-D. The kinetic study on the effect of lanthanum on the growth of *Microcystis* and the accumulation of lanthanum by *Microcystis*. **Environmental Chemistry**, China, v. 22, p. 75, 2003.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brook**. 12. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2010.

MAESTRO, P.; HUGUENIN, D. Industrial applications of rare earths: which way for the end of the century? **Journal of Alloys and Compounds**, Aubervilliers, França, v. 225, n. 1-2, p. 520-528, jul. 1995.

MANDAL, S.; MALLICK, N. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. **Applied Microbiologic Biotechnology**, India, v. 84, p. 281-291, mar. 2009.

MANN, H.; FYFE, W.S. Uranium uptake by algae; experimental and natural environments. **Canadian Journal of Earth Sciences**, London, v. 22, n. 2, p. 1899-1903, 1985.

MELO, P. S.; FABRIN-NETO, J. B., MORAES, S. G. Compartive toxicity of effluents processed by different treatments in V79 fibroblasts and the algae *Selenastrum capricornutum*. **Chemosphere**, [s.l.], v. 62, p. 1207-1213, 2006.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. **Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros**. Rio de Janeiro: Ed. LTC, 2011. p. 278-280.

MORIWAKI, H.; YAMAMOTO, H. Interactions of microorganisms with rare earth ions and their utilization for separation and environmental technology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Tokida, Japan, v. 97, p. 1-8, 2013.

OLGUÍN, E. J.; SÁNCHEZ-GALVÁN, G. Heavy metal removal in phytofiltration and phycoremediation: the need to differentiate between bioadsorption and bioaccumulation. **New Biotechnology**, Mexico, v. 30, n. 1, p. 3-8, nov. 2012.

OLIVEIRA, R. C.; JOUANNIN, C.; GUIBAL, E.; GARCIA JR, O. Samarium (III) and praseodymium (III) biosorption on *Sargassum* sp.: Batch study. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 3, p. 736-744, mar.. 2011.

PALASZ, A.; CZEKAJ, P. Toxicological and cytophysiological aspects of lanthanides action. **Acta Biochim Polonica**, [s.l.], v. 47, p. 1107-1114, 2000.

PALMIERE, M. C. Biosorption of erbium and ytterbium using biomass of microorganisms. In: \_\_\_\_\_ Ciminelli, V. S. T., Garcia, Jr O. (Eds)., *Biohydrometallurgy: Fundamentals, Technology and Sustainable Development Proceedings of the International by Hydrometallurgy Symposium*, vol B, Amsterdam, The Netherlands, pp. 137-143. 2001.

PALMIERI, M. C.; GARCIA JR., O.; MELNIKOV, P. Neodymium biosorption from acidic solutions in batch system. **Process Biochemistry**, Araraquara, Brasil, v. 36, n. 5, p. 441-444, dez. 2000.

PALMIERI, M. C.; VOLESKY, B.; GARCIA JR., O. Biosorption of lanthanum using *Sargassumfluitans* in batch system. **Hydrometallurgy**, Araraquara, Brasil, v. 67, n. 1-3, p. 31-36, dez. 2002.

PELCZAR, M.J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. v. 2, 2 ed. São Paulo: Makron Books, 1997.

PRIBIL, S.; MARVAN, P. Accumulation of uranium by the chlorococcal algae *Scenedesmus quadricauda*. **Archiv fuer Hydrobiologie**, v. 49, p. 214-225, 1976.

PROTISTS-BIOLOGY. Disponível em: <[http:// Biology.unm.edu](http://Biology.unm.edu)> Acesso em: 5 maio 2014.

PUBLIC ALGAE BASE: Listing the World's Algae. **Algae Resource Data Base**. Disponível em: <[http:// www.algaebase.org](http://www.algaebase.org)>. Acesso em: 5 maio 2014.

QIAN, Y.; DAI, S.-G.; LIU, G., -L; GE, W.-D; ZUANG, Y.-Y. Effect of lanthanum nitrate on growth characteristics of *Microcystis aeruginosa*. **China Environmental Science**, China, v. 23, n.1, p. 7, febr 2003.

QING, C. Study on the adsorption of lanthanum (III) from aqueous solution by bamboo charcoal. **Journal of Rare Earths**, Hangzhou, China, v. 28, n. 1, p. 125-131, dez. 2010.

REMACLE, J. The cell wall and metal binding. In:\_\_\_\_\_ Volesky B, editor. **Biosorption of heavy metals**. Boca Raton: CRC Press; p. 83-92, 1990.

ROMERA, E.; Gonzalez, F.; Ballester, F.; Blazquez, M.L.; Munoz, J.A.; Biosorption with algae: a statistical review, **Critical Reviews Biotechnology**, [s.l.], v. 26, n. 4, p. 223-235, dec 2006.

SENGIL, L.A.; ÖZACAR, M. Competitive biosorption of  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  e  $Zn^{2+}$  from aqueous solutions onto valonia tannin resins. **Journal of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 166, p. 1488-1494, 2009.

SERT, S.; KÜTAHYALI, C.; INAN, S.; TALIP, Z.; CETINKAYA, B.; ERAL, M. Biosorption of lanthanum and cerium from aqueous solutions by *Platanusorientalis* leaf powder. **Hydrometallurgy**, Bornova-Izmir, Turquia, v. 90, n. 1, p. 13-18, jan. 2008.

SHEN, H.; REN, Q. G.; MI, Y.; SHI, X. F.; YAO, JIN, C. Z.; HUANG, Y. Y.; HE, W., ZHANG, J.; LIU, B. Investigation of metal ion accumulation in *Euglena gracilis* by fluorescence methods. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, Shangai, China, v. 189, p. 506-510, 2002.

SHI, J. -Y.; ZHAO, W. Stimulative effects of Ga, Ge, As, Cs, La, Ce, Ir and Re on population growth of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal Beijing University**, China, v. 4, p. 38-44, 1987.

SIGER, H. **Metal Ions in Biological Systems**, v. 18, Marcel Decker, New York, 1984, p. 223.

SPONZA, D. T. Extracellular polymer substances physicochemical properties of flocs in steady and unsteady-state active sludge systems. **Process Biotechnol**, [s.l.] v. 37, p. 983-998, 2002.

SUSTENTABILIDADE. Disponível em: <<http://www.ckyamamoto-sustentabilidade.blogspot.com>> Acesso em: 6 maio 2014.

TAI, P.; ZHAO, Q.; SU, D; LI, P; STAGNITTI, F. Biological toxicity of lanthanide elements on algae. **Chemosphere**, Shenyang, China, v. 80, p. 1031-1035, jun 2010.

TANGAROMSUK, J.; POKETHITIYOOK, P.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E. S. Cadmium biosorption by *Sphingomonas paucimobilis* biomass. **Bioresour Technol**, Bangkok, Tailândia, v. 85, n. 1, p. 103-105, out. 2002.

TEWARI, N., VASUDEVAN P., GHUA, B.K., Study on biosorption of Cr(VI) by *Mucor hiemalis*, **Biochemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 23, p.185.

TOBIN, J.; WHITE, C.; GADD, G.M. Fungal accumulation of toxic metals and application to environmental technology. **Journal of Industrial Microbiology**, [s.l.], v. 13, p. 126-130. 1994.

TONG, S.L.; ZHU, W.Z.; GAO, Z.H.; MENG, Y.X.; PENG, R.L.; LU, G.C. Distribution characteristics of rare earth elements in children's scalp hair from a rare earth mining area in Southern China. **Journal Environmental Science Health A**, [s.l.], v. 39, p. 2517-2532, 2005.

TORAB-MOSTAEDI, M.; ASADOLLAHZADEH, M.; HEMMATI, A.; KHOSRAVI, A. Biosorption of lanthanum and cerium from aqueous solutions by grapefruit peel: equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. **Research on Chemical Intermediates**. Iran, Ed Springer Link 2013.

VIJAYARAGHAVAN, K.; BALASUBRAMANIAN, R.; Single and binary biosorption of cerium and europium onto crab shell particles. **Chemical Engineering Journal**, Singapore, v. 163, p. 337-343, agosto 2010.

VIJAYARAGHAVAN, K.; SATHISHKUMAR, M.; BALASUBRAMANIAN, R. Interaction of rare earth elements with a brown marine alga in multi-component solutions. **Desalination**, Singapore, v. 265, p. 54-59, 2011.

VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, YEOUNG-S. Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advances**, Chonju, Coreia do Sul, v. 26, n. 3, p. 266-291, mai.-jun. 2008.

VOLESKY, B. Biosorption and me. **Water Research**, Montreal, Canadá, v. 41, n. 18, p. 4017-4029, out. 2007.

VOLESKY, B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. **Hydrometallurgy**, Montreal, Canadá, v. 59, n. 2-3, p. 203-216, fev. 2001.

VOLESKY, B.; DINIZ, V.. Biosorption of La, Eu and Yb using *Sargassum* biomass. **Water Research**, Montreal, Canada, v. 39, p. 239-247, 2005.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R.; Biosorption of heavy metals. **Biotechnology progress**, [s.l.], v. 11, p. 235-250, 1995.

WANG, J.; CHEN, C. Biosorbents for heavy metals removal and their future. **Biotechnology Advances**, Beijing, China, v. 27, n. 2, p. 195-226, mar-abr. 2009. *apud* PEARSON, R.G. Hard and soft acids and bases. **Journal of the American Chemical Society** v. 84, p. 3533-3539, 1963.

WANG, J.; CHEN, C. Biosorbents for heavy metals removal and their future. **Biotechnology Advances**, Beijing, China, v. 27, n. 2, p. 195-226, mar.-abr.. 2009.

WANG, J.; CHEN, C. Biosorbents for heavy metals removal and their future. **Biotechnology Advances**, Beijing, China, v. 27, n. 2, p. 195-226, mar-abr. 2009 *apud* TALARO, K.P.; TALARO, A. **Foundations in microbiology**. 4.ed. Blacklick, Ohio, U.S.A. McGrawHil College; 2002.

WANG, X. -R.; SUN, H.; XU, Z. -A.; DAI, L. -M.; LI, Z.; CHEN, Y. -J. The effects and bioconcentration of REE La and its EDTA complex on the growth of algae (*Chorella vulgaris*), **Natural Science**, Nanjing, China, v. 32, p. 460, 1996.

WASE, D. A. (Ed.) **Biosorbents for metal ions**. CRC Press, London, UK, pp. 11-88 1997.

WU, D.; NIU, C.; LI, D.; BAI, Y. Solvent extraction of scandium (III), yttrium (III), lanthanum (III) and gadolinium (III) using Cyanex 302 in heptane from hydrochloric acid solutions. **Journal of Alloys and Compounds**, Changchun, China, v. 374, n. 1-2, p. 442-446, jul. 2004.

XING, S. -J.; YANG, W. -D.; LIU, J. -S.; LIN, M. Effect of lanthanum on growth of *Alexandrium tamarense*. **China rare earths**, [s.l.], v. 23, p. 43-45, 2002.

XU, S.; ZHANG, S.; CHEN, K.; HAN, J.; LIU, H. Biosorption of  $\text{La}^{3+}$  and  $\text{Ce}^{3+}$  by *Agrobacterium* sp. HN1. **Journal of Rare Earths**, Zhengzhou, China, v. 29, n. 3, p. 265, mar. 2011.

XU, X.; ZHU, W.; WANG, Z.; WITKAMP, G.J. Distribution of rare earth and heavy metals in field-grown maize after application of rare earth –containing fertilizers. **The Science of Total Environmental**, [s.l.], v. 293, p. 97-105. 2002.

YIN, D. -Q.; YANG, X.-Y.; ZHOU, F. -F.; XUE, Y. Effects of rare earth elements on algae growth in eutrophical water. **Environmental Science**, [s.l.] v.5, n.19, p. 56. 1998.

YITZHAK, M. **Ion Properties**. New York: Ed CRC Press, 1997. P. 203-207.

YOSHIDA, S.; MURAMATSU, Y.; TAGAMI, K.; USHIDA, S. Novel organic conductors containing lanthanide element in counter anio. **Synthetic Met**, v. 86, p. 2047-2048, 1997.

ZHANG, S.; SHAN, X. Speciation of rare earth elements in soil and accumulation by wheat with rare earth fertilizer application. **Environmental pollution**, [s.l.], v. 112, p. 395-405, 2001.

ZHOU, P. -J.; LIN, J.; SHEN, H.; LI, T.; SONG, L. -R.; SHEN, Y. -W.; LIU, Y. -D. Kinetic studies on the effects of rare earth elements (REEs) on the growth of *Microcystis* and their accumulation by *Microcystis*. **Fresenius Environmental Bulletin**, China, v.12, n. 1, p. 1328-1333, 2003.