

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DAIANE BOVENSCHULTE

**BIORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS UTILIZANDO A
MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS*: UMA REVISÃO**

PONTA GROSSA

2022

DAIANE BOVENSCHULTE

**BIORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS UTILIZANDO A
MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS*: UMA REVISÃO**

**Bioremediation of heavy metals using the microalgae
Chlorella Vulgaris: A review**

Trabalho de Conclusão de Curso de
graduação apresentado como requisito para
obtenção do título de Bacharel em Engenharia
Química, Universidade Tecnológica Federal do
Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Alessandra Cristine
Novak Sydney

PONTA GROSSA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

DAIANE BOVENSCHULTE

**BIORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS UTILIZANDO A
MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS*: UMA REVISÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como
requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia
Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 16 de novembro de 2022

Alessandra Cristine Novak Sydney
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Professor de Magistramento Superior

Eduardo Bittencourt Sydney
Doutorado
Usuário Externo

Juliana Martins Teixeira de Abreu Pietrobelli
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Professor de Magistramento Superior

Ponta Grossa,
2022

Dedico este trabalho à minha família,
pelos momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas importantes para mim e que me ajudaram neste importante ciclo da minha vida. Portanto, desde já deixo aqui as minhas desculpas àqueles que não estão presentes, mas elas podem estar certas que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão.

Agradeço primeiramente a Deus, pela minha vida e por ser o meu refúgio durante os obstáculos que enfrentei ao longo deste curso.

A minha família, que me incentivou sempre e se mostrou super compreensíveis em todos os momentos difíceis e à minha ausência e que sem o apoio deles seria muito difícil vencer este desafio;

Aos meus amigos por todos os momentos felizes que me proporcionaram;

Aos meus professores orientadores por todo conhecimento compartilhado nesta trajetória.

Por fim, a todos os que de alguma forma contribuíram para realização deste grande percurso que também é o meu sonho.

RESUMO

A poluição dos corpos d'água por metais juntos a fatores como crescimento desordenado das grandes indústrias aumentou nos últimos anos. A biorremediação com o uso de microalgas de efluentes e águas contaminadas por metais pesados tem se mostrado uma alternativa econômica e sustentável para remoção destes. Para a pesquisa foi escolhido usar o Methodi Ordinatio (InOrdinatio). Methodi Ordinatio é uma metodologia multicritério de tomada de decisão (Multi-Criteria Decision Aid — MCDA) com o objetivo de selecionar artigos científicos para composição de um portfólio bibliográfico com objetivo de avaliar a eficiência da espécie de microalga *Chlorella vulgaris* como agente biorremediador na remoção de metais pesados de águas residuais. A aplicação de microalgas na biorremediação de água é ainda um campo de pesquisa em evolução que atualmente concentra-se no desenvolvimento de métodos e tratamentos eficientes e de baixo custo. Nos estudos utilizados a microalga *Chlorella vulgaris* demonstrou ser eficiente na remoção de metais pesados.

Palavras-chaves: *Chlorella vulgaris*, biorremediação, bio-sorção, águas residuais.

ABSTRACT

The pollution of water bodies by metals together with factors such as the disorderly growth of large industries has increased in recent years. Bioremediation with the use of microalgae from effluents and water contaminated by heavy metals has been shown to be an economical and sustainable alternative for their recovery. For the research was chosen uses the Methodi Ordinatio (InOrdinatio). Methodi Ordinatio is a multi-criteria decision-making methodology (Multi-Criteria Decision Aid - MCDA) with the objective of selecting scientific articles for the composition of a bibliographic portfolio in order to evaluate the efficiency of the microalgae *Chlorella vulgaris* as a bioremediation agent in the removal of heavy metals from wastewater. The application of microalgae in water bioremediation is still an evolving field of research that currently focuses on the development of efficient and low-cost methods and treatments. In the studies used, the microalgae *Chlorella vulgaris* proved to be efficient in the removal of heavy metals.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, bioremediation, biosorption, wastewater

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Micrografia da Microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	18
Figura 2: Representação da biossorção de metais usando biomassa	23
Figura 3: Esquema Methodi Ordinatio	25
Figura 4: Sítios de ligação de metal de uma célula de alga típica	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Mecanismos e características dos processos de biossorção	22
Tabela 2: Etapas Methodi Ordinatio	24
Tabela 3: Combinação de palavras chave	26
Tabela 4: Resultado das buscas nos bancos de dados	27
Tabela 5: Comparação entre valor de pH e Eficiência da remoção de metais (%)	34
Tabela 6: Eficiência de remoção dos metais em solução individual vs solução contendo 4 metais	37
Tabela 7: Temperaturas utilizadas para cultivo e experimentos com <i>C. vulgaris</i>.	39
Tabela 8: Resumo dos diferentes sistemas, métodos e estratégias de cultivo de microalgas.	40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. Objetivos.....	12
1.1.1. Objetivo Geral.....	12
1.1.2. Objetivos específicos.....	12
1.2. Justificativa.....	12
2. REFERENCIAL TEORICO.....	13
2.1. Águas residuais.....	14
2.2. Biorremediação.....	14
2.3. Microalgas.....	15
2.4. <i>Chlorella vulgaris</i>.....	16
2.5. Metais.....	17
2.5.1. Zinco.....	18
2.5.2. Cobre.....	18
2.6. Tratamento para remoção de metais pesados.....	18
2.7. Biossorção.....	19
3. METODOLOGIA.....	23
4. DESENVOLVIMENTO.....	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1. Mecanismos de biossorção dos metais.....	28
5.2. Fatores que afetam a biossorção.....	31
5.2.1. pH.....	31
5.2.2. Temperatura e Luz.....	36
5.2.3. Sistemas e métodos de culturas.....	38
5.3. Toxicidade dos metais.....	40
5.3.1. Cadmio (Cd)	41
5.3.2. Chumbo (Pb)	42
5.3.3. Cobre (Cu)	42
5.3.4. Cromo (Cr)	42
5.3.5. Ferro(Fe)	43
5.3.6. Mercúrio(Hg)	43
5.3.7. Níquel(Ni)	44
5.3.8. Zinco(Zn)	44
6. CONCLUSÃO.....	46
REFERENCIAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

O grande aumento populacional dos últimos anos e a expansão industrial instaurou inúmeros problemas ambientais no planeta. A poluição de efluentes com metais pesados é de grande preocupação, uma vez que esses componentes apresentam características tóxicas e perigosas aos seres vivos. Nesse sentido, é de grande importância a remoção deste tipo de resíduos, possibilitando a redução dos impactos negativos. A indústria de mineração, metalúrgica e galvanoplastia constituem as principais atividades industriais geradoras de efluentes líquidos com elevadas concentrações de metais.

De acordo com Farnane et al. (2017), a qualidade os corpos de água são constantemente comprometidos devido ao lançamento de efluentes industriais, visto que os elevados índices de contaminação por metais ocorrem, principalmente, por conta de lançamento indevido. As descargas de metais pesados provenientes das águas residuais industriais permanecem nos sedimentos e são lentamente libertados no corpo de água, criando assim uma fonte de poluição a longo prazo sustentável (De la Noüe & De Pawn, 1988). O uso de sistemas biológicos para a remoção de ions metálicos das águas poluídas, tem mostrado potencial para atingir uma melhor performance a um custo mais baixo que as tecnologias convencionais de tratamentos de águas residuais (Wilde & Benemann, 1993).

As microalgas demonstram grande capacidade de fazer biorremediação que consiste no processo de remover contaminantes no ambiente. A remoção de metais do meio ocorre pela incorporação destes na biomassa, assim efetua uma alta taxa de remoção (WANG; LAN, 2011). Diversos efluentes podem ser uma boa opção para a multiplicação algal e incorporação na sua biomassa (ORTENZIO, et al. 2015). Muitos autores relatam que a *Chlorella vulgaris* é uma espécie comum e eficaz para a imobilização e afins de remoção de nutrientes (Hameed, 2007) e metais pesados (Hameed 2006). Assim, as possibilidades de aplicação da microalga *C. vulgaris* no tratamento de águas residuais para remoção de metais pesados são grandes.

O uso de métodos biológicos na remoção de metais pesados é um método alternativo com inúmeras vantagens em comparação aos métodos tradicionais. Os métodos que se destaca entre os métodos não convencionais é a biossorção. A biossorção é uma alternativa para a remoção de íons de metais pesados, aos

métodos existentes, de baixo custo e a biomassa disponível naturalmente, podese utilizada (SHEKHAR et al., 2003).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a capacidade de bio-sorção de metais pesados pela microalga *C. vulgaris*.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Analisar a toxicidade dos metais no crescimento da microalga *C. vulgaris*;
- b) Analisar a capacidade da referida microalga em remover os metais pesados.

1.2 JUSTIFICATIVA

A contaminação de águas por meio de efluentes é um grave problema ambiental, principalmente a contaminação por metais pesados por sua toxicidade que inviabiliza a utilização da água e causa intoxicação na vida marinha. O uso de sistemas biológicos como a microalga tem sido estudado a algum tempo como forma de remoção desses metais pesados dos efluentes, visto que as microalgas têm grande capacidade de remoção dos mesmos. Entre as microalgas existentes, a *C. vulgaris* se destaca com grande potencial biorremediador. São grandes as vantagens do uso da microalga na remoção de metais em comparação as tecnologias tradicionais, como o baixo custo operacional, a seletividade aprimorada para metais de interesse e o curto tempode operação. Visto os problemas causados pela contaminação de metais pesados em corpos hídricos e o potencial da microalga *C. vulgaris* de remove- los, foi proposto esse trabalho.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Águas residuais

Existem dois tipos de águas residuais: as domésticas e as industriais. As domésticas são resultantes da atividade do dia a dia dos humanos, como cozinhar, tomar banho, limpar, e a mesma se transforma em água residual e necessita de tratamento. As águas residuais industriais são provenientes das indústrias, contém mais contaminantes, muitas vezes metais pesados, que tem um alto teor de toxicidade, necessitando de tratamento para ser recuperado antes do lançamento nas vias fluviais. As descargas de metais pesados provenientes das águas residuais industriais permanecem nos sedimentos e são lentamente libertados no corpo de água, criando assim uma fonte de poluição a longo prazo sustentável (DE LA NOÛE & DE PAWN, 1988).

O tratamento é feito em estações de tratamentos e a qualidade da água é definida em função da legislação vigente conforme o uso que se destina. O tratamento é feito em quatro fases, e pode ser classificado de acordo com o grau de remoção dos poluentes. São eles:

1. Tratamento preliminar: nessa primeira fase, as águas residuais são filtradas, onde são removidos os sólidos mais grosseiros, como plásticos, areias, etc;
2. Tratamento primário: nessa etapa, as águas residuais passar processos físico-químicos onde é removido sólidos sedimentares e flutuantes;
3. Tratamento terciário: as águas residuais sofrem um tratamento biológico, com bactérias que removem a matéria orgânica.
4. Tratamento terciário: nessa fase são realizados tratamentos físicos, químicos e biológicos, com o objetivo de remover bactérias, os sólidos em suspensão, nutrientes em excesso e os compostos tóxicos. Tornando a água mais pura.

Na indústria, a água é frequentemente recuperada para diversas finalidades, como limpeza de equipamentos, resfriamento de processos industriais ou simplesmente é recuperada para a remoção de metais pesados antes de seu lançamento na rede de esgotos ou rios. A remoção de poluentes nas águas residuais industriais podem ser físicos, químicos ou biológicos e são

conhecidos como métodos tradicionais. Entretanto esses métodos apresentam diversas desvantagens, como alto consumo de energia e alto custo de operação. Adsorção, troca de íons, filtração em membrana, e coagulação, são alguns exemplos de métodos físicos. Métodos químicos incluem soluções ácidas ou básicas ou oxidação, enquanto métodos biológicos podem ser aeróbios, anaeróbios ou enzimáticos (GADD, 2009).

Visto as desvantagens na operação dos métodos tradicionais, pesquisadores ao redor do mundo vem buscando métodos alternativos para a remoção de poluentes. Entre estes métodos não convencionais se destaca a biossorção, que se tornou uma atraente técnica comum por muitas razões, como sendo de um bom custo-benefício, altamente eficiente e facilidade implementação, sendo assim uma boa alternativa para os métodos convencionais (EL-SAYED e EL-SAYED, 2014).

2.2 Biorremediação

A contaminação dos solos, águas subterrâneas, sedimentos, água de superfície e ar com produtos quimicamente perigosos e tóxicos, é um dos principais problemas que se colocam no mundo industrializado de hoje (BAKER & HERSON, 1994). Vários pesquisadores em busca de tornar os processos biotecnológicos, na área ambiental, mais eficientes desenvolveram uma técnica chamada de biorremediação, que é uma abordagem emergente para reabilitar áreas contaminadas por poluentes ou outros malefícios causados por má gestão de ecossistemas (VIDALI, 2001)

O termo biorremediação foi introduzido para descrever o processo de utilização de agentes biológicos, principalmente microrganismos, para remoção de resíduos tóxicos do ambiente (KUMAR et al., 2011). São processos de degradação biológica de poluentes com o uso de organismos vivos, com o propósito de remover contaminantes do ambiente. A biorremediação é um dos fatores preferenciais de aplicação devido à significância que este processo tem para o meio ambiente, logo o tratamento de efluentes em pequena escala é predominante (PITTMAN, DEAN e OSUNDEKO, 2010). É uma técnica de custo inferior em comparação a técnicas convencionais de tratamentos de efluentes.

Neste contexto, as microalgas mostram-se uma alternativa plausível para o tratamento biológico na remoção de poluentes, pois possuem a capacidade de utilizar o nitrogênio inorgânico e o fósforo para seu crescimento. Além disto, estes microrganismos também auxiliam na retirada de metais pesados e de produtos químicos e orgânicos contaminantes (NOIE, LALIBERT e PROULX, 1992).

2.3 Microalgas

As algas compreendem grupos de seres vivos aquáticos e autotróficos, conseguem produzir energia para seu metabolismo através da fotossíntese. Pode-se afirmar que estes organismos são divididos em dois grandes grupos: as microalgas e as macroalgas (CHISTI, 2007). As microalgas são organismos importantes nos ecossistemas aquáticos, formam a base da maioria das cadeias tróficas aquáticas (MORENO-GARRIDO, 2008).

Podem ser encontradas em ambientes marinho e em ambientes de água doce. Assim, no grupo incluem-se os organismos de dois tipos celulares distintos: cianobactérias, com estrutura celular procariota e as restantes microalgas de estrutura celular eucariota (LEE, 1989). Podem ser promissoras como matéria-prima de biomassa, devido ao rápido crescimento, alta reprodução e baixa emissão de gases de efeito estufa (CHISTI, 2007).

Podem assumir vários tipos de metabolismos, sendo capazes de uma mudança metabólica como resposta às mudanças das condições ambientais (MATA, MARTINS e CAETANO, 2010). São divididas em doze grupos, onde os mais abundantes, são as algas verdes (Chlorophyceae), as verdes-azuis (Cyanophyceae), as marrons douradas (Chrysophyceae) e as diatomáceas (Bacillariophyceae) (AL HATTAB; GHALY, 2015).

As microalgas necessitam de fonte de luz, água e nutrientes para o crescimento. Dentre estes nutrientes destacam-se o carbono (inorgânico), nitrogênio e fósforo, sendo vitais para o desenvolvimento das algas, bem como, o equilíbrio entre alguns parâmetros operacionais como: controle de dióxido de carbono, remoção de oxigênio, pH, temperatura e intensidade luminosa (MATA, MARTINS e CAETANO, 2010).

O uso de algas nativas, assim como a *C. vulgaris*, na fitorremediação de efluentes aquícolas é muito importante porque já são algas resistentes e bem adaptadas às condições naturais (LI et al., 2013). Além disso, são capazes também de remover metais pesados, incorporando-os na parede celular (RICHARDS; MULLINS, 2013) e alguns compostos orgânicos tóxicos como fenóis e clorofenóis (CHIAIESE et al., 2011). A *C. vulgaris* foi utilizada por Kim et al., 2010, para avaliar a capacidade de remoção de nitrogênio na forma de íon amônia ou amônio, sendo capaz de remover drasticamente os compostos nitrogenados em apenas 48 h, evidenciando seu elevado potencial para tratamento de águas residuais.

2.4 *Chlorella vulgaris*

A microalga da espécie *C. vulgaris* pertence ao grupo Chlorophyta, e é a microalga que será estudada. É uma alga de água doce usada para o tratamento terciário de águas residuais, principalmente para a remoção de compostos de azoto, fósforo e metais pesados (AKSU et al., 1992; TAM et al., 1998). Também é utilizada para vários processos industriais de tratamento de águas residuais (KAYANO et al., 1981; WIKSTROM et al., 1982).

A espécie *C. vulgaris* possui forma esférica, medindo de 2 a 8 μm de diâmetro, unicelular e eucariótica. Elas são geralmente encontradas em águas de lagoas e lagos, em solo úmido ou outras situações úmidas, como a superfície de troncos de árvores, potes de água e paredes úmidas (CHAPMAN; CHAPMAN, 1973). Microrganismo fotossintetizante e com reprodução assexuada (DUARTE, 2001). A biomassa de *C. vulgaris* as seguintes proporções: carboidratos (18 % p/p); proteínas (60 % p/p); lipídeos (11 % p/p) e minerais (2-5 % p/p) (RAYMUNDO et al., 2005), mas pode variar significativamente dependendo das condições de cultivo e de processo.

A reprodução da *C. vulgaris* é assexuada e ocorre de forma rápida. Em condições ótimas, dentro de 24h, uma célula se multiplica por autoesporulação, que é o tipo de reprodução mais comum entre as algas (SAFI, 2014). As microalgas são capazes de remover nutrientes (nitrogênio e fósforo), metais tóxicos e patógenos que estão presentes nas águas residuárias. Sendo assim,

foi considerada como uma das mais promissoras microalgas para a biorremediação de águas residuárias (SAFI, 2014)

Figura 1: Micrografia da Microalga *Chlorella vulgaris*



Fonte: Google 2020

2.5 Metais pesados

O termo “metais pesados” é empregado para elementos químicos com uma densidade superiores a 5 g/cm^3 , capazes de formar sulfuretos (ADRIANO, 1986). São metais quimicamente reativos e bioacumulativos, ou seja, o organismo não é capaz de eliminá-los. Alguns metais são essenciais ao organismo humano, como o ferro, cobre, zinco, cromo, porém em altas quantidades podem causar diversas doenças. Podem produzir efeitos na saúde em consequência de sua presença no ar, na água, no solo e nos alimentos (PASCALICCHIO, 2002).

O aumento das atividades industriais tem intensificado o problema da poluição do meio ambiente e a deterioração dos ecossistemas pelo acúmulo de metais tóxicos, que são frequentemente lançados nos ambientes aquáticos (KIELING et al., 2009). Quando em excesso, os metais tóxicos podem inibir o crescimento das plantas e causar alterações nas comunidades vegetais, como também exercer efeitos adversos sobre os microrganismos, interferindo nas funções do ecossistema, com consequências ao meio ambiente e à saúde humana (CARNEIRO et al., 2001). Os perigos deste tipo de contaminações na água não se restringem apenas ao consumo direto dessa água contaminada,

mas também às consequências diretas da cadeia alimentar quando nos referimos a tóxicos bioacumulativos (JESUS et al., 2011).

2.5.1 Zinco

Zinco é um elemento químico muito encontrado na atmosfera terrestre, possui símbolo Zn e é encontrado no estado sólido quanto está em temperatura ambiente. Tem função essencial no corpo humano, desempenhando a função de aumentar a imunidade, prevenção de câncer, porém sua ingestão em excesso é maléfica podendo causar intoxicação, sérias doenças e morte.

2.5.2 Cobre

O cobre é um elemento químico metálico de símbolo Cu pertencente ao grupo IIB e número atômico 29, vermelho-amarelado e a temperatura ambiente encontra-se no estado sólido. É um dos metais mais importantes industrialmente, dúctil, maleável e bom condutor de eletricidade. É utilizado na produção de materiais condutores de eletricidade, plantas de processamento químico e farmacêutico, em catalisadores, trocadores de calor industriais e automotivos e produtos domésticos, incluindo utensílios de cozinha.

O cobre é um dos minerais que apresenta importância para o bom funcionamento do organismo humano, é encontrado em baixa concentração no sangue, mas tem funções relacionadas com atividade de enzimas e formação de células sanguíneas. Entretanto sua ingestão em excesso pode causar diversas doenças, causar náuseas, tonturas, vômitos hematuria, insuficiência renal e morte.

2.6 Tratamentos para remoção de metais pesados

Atualmente, diversos métodos são empregados no tratamento para a remoção de metais pesados de efluentes, podemos citar: filtração com membrana, precipitação química, adsorção.

A filtração com membrana e a precipitação são utilizadas na remoção de metais pesados de altas concentrações de íons metálicos, mas ineficiente em

metais traço. A adsorção é ineficiente na remoção destes metais em soluções bastante concentradas, além disso outra técnica que vem sendo amplamente estudada é a troca iônica por quelação, a qual apresenta a vantagem de remover íons específicos, como os de metais tóxicos, quando na presença de grandes quantidades de íons de metais alcalinos e alcalino-terrosos. (CARVALHO, 2006).

Uma consciência ambiental tem vindo a aumentar, devido ao alto custo de armazenamento deste tipo de resíduo, à competitividade do mercado, a pressões populares, à ênfase na qualidade do produto e ao reconhecimento do esgotamento de recursos naturais e ao cumprimento das metas legais (ANUSHREE, 2004). Todos estes fatores impulsionaram as indústrias a mudanças para métodos de produção mais limpos, impulsionando o desenvolvimento de sistemas de tratamento com melhor desempenho ambiental; mais eficientes e de menor custo (MALIK et al., 2005). Nesse contexto surgem métodos de tratamento alternativos como o processo de biossorção, que emprega como adsorvente materiais de origem natural é uma tecnologia promissora e em atual expansão.

2.7 Biossorção

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

A biossorção é uma técnica alternativa de tratamento de efluente, empregada para a remoção de metais pesados. É um processo no qual se utiliza sólidos de origem vegetal ou microrganismos na retenção, remoção ou recuperação de metais pesados de um ambiente líquido (COSSICH et al., 2000).

A tecnologia que utiliza a biomassa de algas marinhas para a biossorção de compostos em águas residuais contaminadas tornou-se uma alternativa para os processos convencionais de tratamento (JAYAKUMAR et al., 2015). Assim, as principais vantagens desta técnica são a reutilização da biomassa, o baixo

custo operacional, a seletividade aprimorada para metais de interesse, remoção de metais pesados de efluentes, o curto tempo de operação e a não formação de compostos mais perigosos (JAYAKUMAR et.al., 2015).

A biossorção ocorre entre uma fase sólida chamada adsorvente (biomassa) e uma fase líquida chamada solvente, onde contém as espécies dissolvidas que é o adsorvato (íons metálicos). O adsorvato é atraído pelo sólido e capturado por diferentes mecanismos, o processo é contínuo até ocorrer o equilíbrio entre a concentração do adsorvato dissolvido e a concentração do adsorvente. (Figura 2). Yi et al. (2016) descrevem que se pode utilizar para o processo de biossorção tanto algas vivas, como algas mortas, entretanto a biomassa de algas mortas apresenta diversas vantagens, já que possui menores custos, possibilita a remoção eficiente dos metais pesados, pode ser regenerado de forma facilitada e não necessita de muitos cuidados para o seu uso.

Diversos fatores influenciam no processo biossorção, tais como:

- pH
- a concentração da biomassa e dos metais na solução
- Temperatura
- Pré tratamento da biomassa

O pH é o fator que mais influencia na biossorção de íons metálicos, a tendência é que a remoção de metal aumente com o aumento do pH, isso ocorre devido à natureza acida fraca dos sítios ativos do biossorvente, favorecendo a captação do metal. Ocorre uma limitação do valor da faixa de pH para a biossorção, sabendo-se que valores muito altos de pH podem danificar a estrutura da biomassa e alterar o sítio ativo de ligação. A biossorção de metais é baseada em vários tipos de mecânicos, como mostra a tabela 1.

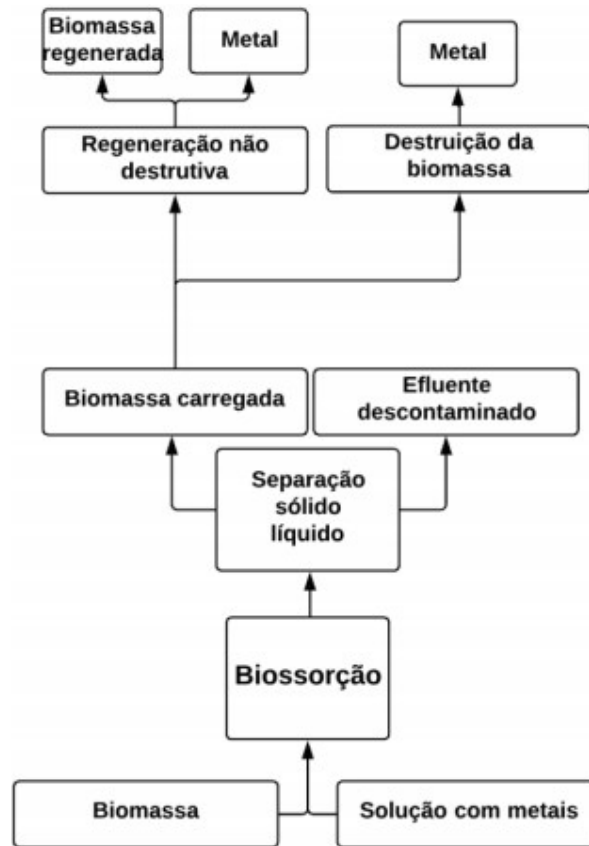
Tabela 1 – Mecanismos e características dos processos de biossorção

Tipo de adsorção	Mecanismo	Características
Química	Complexação	Formação de compostos devido á associação de duas ou mais espécies.
Química	Coordenação	Átomo central de um complexo unido a outros átomos por ligações covalentes.
Química	Quelação	Formam-se quelatos que são complexos nos quais há um composto unido ao metal.
Química	Troca iônica	Intercambio de íons que se encontram formando espécies moleculares ou atômicas com a perda ou ganho de elétrons.
Física	Adsorção	Moléculas aderem-se a uma superfície sólida, devido a cargas eletrostáticas.
Física	Microprecipitação	Ocorre quando há variação nas condições do sistema próximo da superfície da biomassa, como exemplo, a variação do pH que pode levar a uma precipitação.

Fonte: Pino, 2005

Com isso, a biossorção surge como um processo alternativo em decorrência de características como preço reduzido do material biossorvente, aplicação em sistemas com capacidade de desintoxicar grande volume do efluente com custo baixo operacional, possível seletividade e recuperação da espécie metálica. (MOHAN e PITTMAN JR., 2007; PINO e TOREN, 2011; SILVA et al., 2014).

Figura 2: Representação da biosorção de metais usando biomassa



Fonte: Boniolo, 2008

3 METODOLOGIA

Para a pesquisa foi escolhido usar a Methodi Ordinatio (InOrdinatio), que é uma metodologia multicritério de tomada de decisão (Multi-Criteria Decision Aid – MCDA) com o objetivo de selecionar artigos científicos para composição de um portfólio bibliográfico (PAGANI; KOVALESKI; RESENDE, 2015).

Esse método tem a proposta de criação de portfólio de artigos com relevância científica, utilizando critério de citação, fator de impacto e ano de publicação. O método é composto por 9 etapas, descritas abaixo:

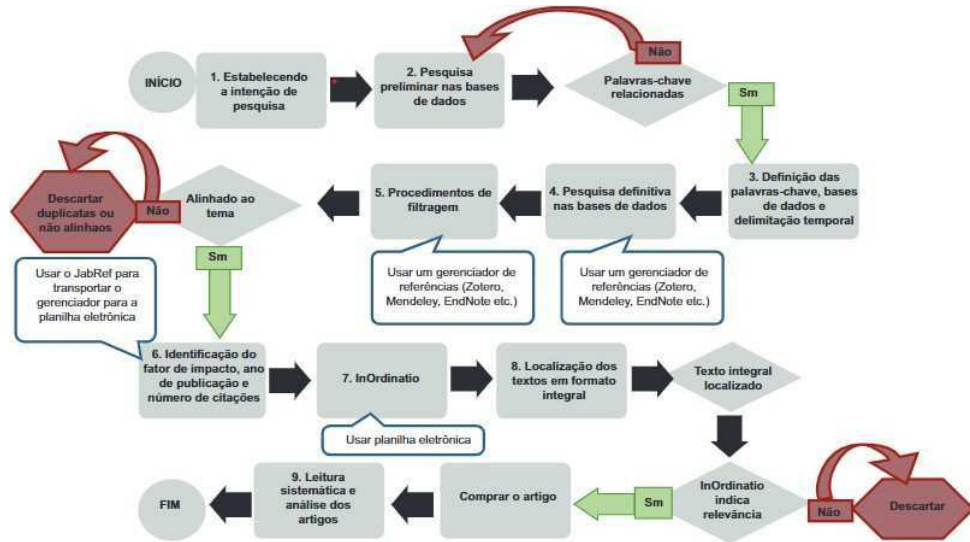
Tabela 2: Etapas Methodi Ordinatio

Etapas Methodi Ordinatio	
1	Etapa Estabelecendo a intenção de pesquisa
2	Etapa Pesquisa preliminar com as palavras-chave nas bases de dados
3	Etapa Definição da combinação das palavras-chave e das bases de dados a serem utilizadas
4	Etapa Busca final nas bases de dados
5	Etapa Procedimentos de filtragem
6	Etapa Classificando os artigos utilizando o InOrdinatio
7	Etapa Localizando os trabalhos em formato integral

8	<p>Etapa</p> <p>Leitura sistemática e análise dos artigos</p>
---	---

Fonte: Autoria própria, 2022

Figura 3: Esquema Methodi Ordinatio



Fonte: Adaptado de Pagani et al. (2015)

4 DESENVOLVIMENTO

Etapa 1: Definição da intenção da pesquisa

Avaliar a capacidade de remoção de metais pesados pela microalga *C. vulgaris*.

Etapas 2 a 6 – Base de dados, definir combinação de palavras-chave, realizar busca final na base de dados e filtragem

A partir da definição de pesquisa, foi realizada uma pesquisa preliminar exploratória nas bases de dados Science Direct, Web of Science e Scopus, usando os termos "Chlorella". Vulgaris", "biosorption", "metals" e "wastewater".

As combinações de palavras chave escolhidas para realizar a busca de artigos pode ser observada na tabela 3:

Tabela 3: Combinação de palavras chave

Combinação das palavras chave
<i>Chlorella Vulgaris</i> AND biosorption
<i>Chlorella Vulgaris</i> AND heavy metals
<i>Chlorella Vulgaris</i> AND bioremediation

Fonte: Autoria própria, 2022

A extração de artigos foi executada nas 3 bases de dados mencionadas acima, utilizando a configuração "Abstract, Title and Keywords" com as combinações de palavras chave e considerando artigos publicados nos últimos cinco anos. A tabela 4 abaixo mostra os resultados obtidos:

Tabela 4: Resultado das buscas nos bancos de dados

Keyword combination	Scopus	Web of Science	Science Direct	Total
<i>Chlorella Vulgaris</i> AND biosorption	58	143	18	219
<i>Chlorella Vulgaris</i> AND heavy metals	142	183	38	363
<i>Chlorella Vulgaris</i> AND bioremediation	234	236	52	522

Fonte: Autoria própria, 2022

Posteriormente, foi realizado o processo de filtragem utilizando o com o auxílio dos softwares gratuitos Mendley e JabRef e de planilha eletrônica. Para a filtragem foi descartado artigos repetidos, sem autor e considerados fora do tema proposto.

Etapas 7 a 9 – Ranquear estudos aplicando InOrdinatio, busca completa dos artigos e análise sistemática dos dados.

Para montar o ranking dos estudos mais relevantes foi realizada avaliação de qualidade dos estudos com o uso do método Methodi Ordinatio (PAGANI; KOVALESKI e RESENDE, 2015). Os dados obtidos na etapa anterior foram utilizados para selecionar os artigos com a maior relevância. A equação InOrdinatio, leva em consideração o fator de impacto, número de citações e ano de publicação.

$$\text{InOrdinatio} = (Fi / 1000) + \alpha * [10 - (\text{AnoPesq} - \text{AnoPub})] + (\sum Ci)$$

onde:

- Fator de impacto (FI): fator de impacto determinado pelo índice SJR.
- Fator de ponderação (FP): ele varia de 1 a 10 e deve ser atribuído pelo pesquisador que está conduzindo o mapeamento sistemático da literatura.
- Ano de pesquisa (AnoPesq): ano em que a pesquisa foi realizada, nesse caso 2022.
- Ano de publicação (AnoPub): ano em que a pesquisa foi publicada.
- Número de citações (Ci): número de vezes que o artigo foi citado, localizadas no google scholar.

O valor do α usado neste trabalho foi 10 para que os trabalhos mais recentes pudessem ter uma classificação melhor.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo apresenta análise dos resultados e discussão dos dados obtidos. A partir da análise dos artigos, é possível examinar a importância da alga *Chlorella vulgaris* como microrganismo potencial na função de biossorvente de metais pesados.

5.1 Mecanismos de biossorção dos metais

Para se produzir microalgas, é necessário o estudo prévio sobre a biologia da alga, como exemplo o meio de cultivo, luz, fornecimento de nutrientes, metabolismo, pH, biomassa produzida, temperatura e o tipo de produto final produzido pela cultura (Coronado-Reyes et al, 2022). Um dos principais pontos positivos no uso das microalgas para biorremediação é que na produção algas podem ser utilizadas águas residuais e soluções salinas não-potáveis e o produto final gerado a partir do processo de biorremediação pode também ter valor agregado. (Pacheco et al, 2020).

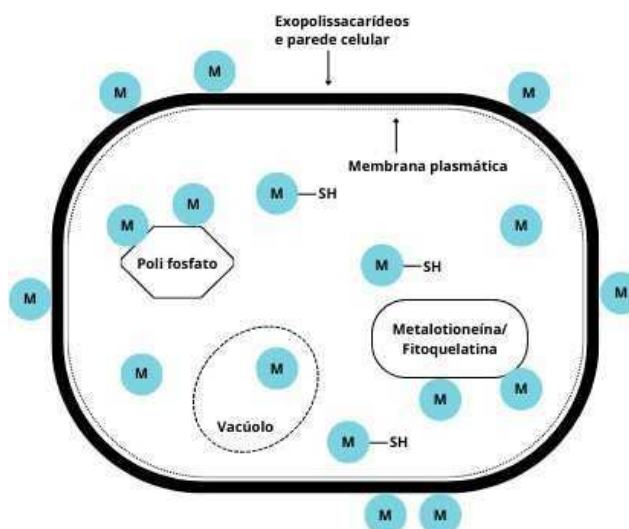
A poluição por metais pesados é um dos problemas ambientais mais críticos devido à capacidade de bioacumulação e aos efeitos tóxicos que os metais têm sobre os seres vivos (Wai Lynn aung et al, 2012). Devido aos avanços da química, existem vários íons metálicos que quando não descartados corretamente e acima do limite recomendado são nocivos a saúde, normalmente eles podem ser encontrados em águas residuais industriais, a maioria dos quais são metais pesados como Mercúrio (Hg), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Cobalto (Co), Zinco (Zn), Cromo (Cr) entre outros.

Os métodos atuais para remoção ou recuperação de íons metálicos em águas residuais incluem troca iônica, eletrólise, coagulação, adsorção, quelação, separação por membrana, ultrafiltração, etc. (Faezeh Manzoor et al, 2019). Porém são ineficientes quanto a concentração de metais pesados nas águas residuais é muito baixa (10 - 100 mg/L) (Zhao, 2012).

O uso da biorremediação é um processo que tem se destacado cada vez mais na literatura, pois, através da capacidade bioacumuladora das microalgas é possível fazer a remoção de metais e minerais radioativos de meios contaminados. O mecanismo por trás deste processo é inerente ao metabolismo das algas (Pacheco et al, 2020). Sendo assim, a biorremediação é o uso da biomassa de microrganismos com a finalidade de remover metais pesados de águas residuais através de absorção por meio do metabolismo celular. Algas, bactérias e fungos são alguns dos microrganismos que podem ser utilizados no papel biorremediador. Dentre estes microrganismos, se destacam as microalgas, pois elas têm o potencial de remoção de metais pesados além do baixo custo envolvido no cultivo.

De acordo com Faezeh Manzoor et al (2019) apud Dwivedi (2012), dentre as muitas espécies de microalgas existem três que são mais utilizadas para remover metais pesados, são: *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Spirulina*. A biossorção das microalgas ocorre de duas formas: intracelular e extracelular. Na primeira a biossorção é chamada acumulação, que é um processo de absorção ativo, lento, e dependente do metabolismo celular. Alguns metais como o Cobre e o Zinco, podem ser aceitos como elementos essenciais durante o cultivo das algas. Em comparação com o processo extracelular a sorção intracelular é muito mais lenta, de modo que a eficiência é muito baixa para tratar efluentes, embora os metais adsorvidos sejam muito estáveis nas algas. Já no extracelular, por ser um processo passivo ocorre de forma mais rápida. Neste, os íons metálicos são adsorvidos na superfície da célula em um período de tempo relativamente curto (de segundos a minutos), e o processo é independente do metabolismo celular. (Zhao, 2012).

Figura 4: Sítios de ligação de metal de uma célula de alga típica. (M representa a espécie de metal).



Fonte: Zhao (2012).

Na figura 3 é possível ver os prováveis sítios de ligação de íons metálicos de uma alga. O acúmulo de metais é devido à adsorção na superfície celular (parede, membrana ou polissacarídeos externos) e a ligação à ligantes citoplasmáticos, fitoquelatinas e metalotioneínas e outras moléculas intracelulares.

A parede celular de algas verdes como a *Chlorella vulgaris*, contém heteropolissacarídeos que são responsáveis pelo sequestro de íons metálicos através de grupos carboxílicos e sulfatos livres. De acordo com Zhao (2012) é válido ressaltar que o termo troca iônica é um termo genérico para descrever essa ligação, uma vez, quando observados, os mecanismos de ligação responsáveis pelo sequestro dos metais incluem ligação físico-química, forças de Van der Waals, covalentes etc. Também como efeito principal podemos considerar a ligação eletrostática, pois quando em suspensão as microalgas tendem a ter carga negativa ao contrário dos íons metálicos que são carregados positivamente (Pb^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} etc.). Paredes celulares de microalgas oferecem hidroxila (-OH), fosforil(- PO_3O_2), amino(- NH_2), carboxila(-COOH),

grupos sulfidrilas(-SH). Para microalgas como espécies de *Spirulina* e *Chlorella vulgaris*, [íons metálicos são atraídos pelo potencial força negativa dos componentes presentes na parede celular (Piccini et al, 2019).

5.2 Fatores que afetam a bioissorção

A bioissorção de metais pesados por algas pode ser afetada por vários fatores incluindo concentração de metais e biomassa, pH, temperatura, presença de íons competidores e a fase metabólica do organismo.

5.2.1 pH

A maior parte dos estudos mostrou que a remoção de íons metálicos em grandes quantidades, bem como em sistemas contínuos, é uma função do pH da solução. Vários estudos foram realizados com o objetivo de descobrir o pH ideal de forma que isso maximize o potencial de remoção de metal pelas microalgas. Almomani e Bhosale (2020), encontraram uma melhora significativa na eficiência na absorção de metais pesados (Al, Ni, Cu) em suas culturas, acidificando o meio usando H₂SO₄ e ajustando o pH para 4. Konig-Péter et al, 2015 tiveram resultados semelhantes com pH controlado em 4-6 em cepas liofilizadas de *Chlorella vulgaris* na absorção de Cd, Cu e Pb chegando à conclusão de que o pH ideal para melhor absorção desses metais era 4.

O aumento do pH pode ter também um efeito prejudicial na atividade bacteriana, em pH alcalino a atividade de bactérias aeróbicas e facultativas em águas residuais pode ser reduzida pois seu crescimento e funções ficam prejudicados. (Mohsenpour et al, 2020). Estudos feitos por Blanco-Vieites et al, (2022), mostram que as cepas estudadas, dentre elas a *Chlorella vulgaris*, apresentaram resultados satisfatórios na remoção de Ferro, tendo redução de 97,5% da concentração inicial do metal.

Uma grande influência do pH na remoção do metal também pode ser relacionado à disponibilidade de íons metálicos livres na solução. Metais em águas residuais ocorrem em uma variedade de formas químicas por exemplo, íons aquosos livres, complexados com ligantes inorgânicos e orgânicos e

adsorvido em fases particuladas. De fato, os efeitos tóxicos dos íons metálicos para os organismos dependem da concentração de íons livres em meio aquoso da mesma forma que a absorção de metais também é uma função da concentração de íons metálicos livres presentes na solução. A disponibilidade de íons metálicos para ligação em algas depende da especiação química do metal, que por sua vez é determinada pelo pH da solução.

Tabela 5: Comparação entre valor de pH e eficiência da remoção de metais (%)

Autor	pH	Metais utilizados	Tempo de absorção (min)	Quantidade de adsorvente	Eficiência de remoção de metal (%)
Almoman, Bhosale, 2020	5-5	Al	120	50 mg/L	95%
	6	Ni	120	50 mg/L	87%
	7	Cu	120	50 mg/L	63%
Blanco-Vieites et al, 2022	9.5-10	Fe	2880	1,5 g/L	97.5%
Goher et al, 2016	7.5	Cd	120	1 g/cm ³	95.5%
		Cu	120	1 g/cm ³	97.7%
		Pb	120	1 g/cm ³	99.4%
Koning-Péter et al, 2015	5-6	Pb	20-25	1 g/L	80%
	4-6	Cu	20-25	1 g/L	80%
	4-6	Cd	20-25	1 g/L	80%
Kumar, Singh, Sikandar, 2020	6	Hg	120	1 g/L	95.5%
Piccini et al, 2019	5 - 5.5	Ni	12	150mmol/L	50%
		Zn	12	150mmol/L	78%
		Cd	12	150mmol/L	90%
		Cu	12	150mmol/L	85%
Plohn, Escudero-Onate, Funk, 2021	7.5	Cd	1140	2,5 mg/L	72%
Travieso et al, 1998	6.8-7.2	Cd	5760	600 mg/L	66%
		Zn	5760	600 mg/L	85%
		Cr	5760	600 mg/L	48%
Zhao, 2012	2.5 - 6	Al	20	5 mg/L	99%
		Zn	20	5 mg/L	70%
		Cu	20	5 mg/L	85%

Fonte: Autoria própria, 2022

Nos estudos utilizados, em sua maioria, a *Chlorella vulgaris* demonstrou grande potencial na remoção de metais pesados e remoção dos mesmos, no entanto o pH demonstrou ser um fator crucial para melhor absorção de íons metálicos nesta espécie de microalga.

Almomani e Bhosale (2020), por exemplo, obtiveram ótimos resultados em seus estudos de biossorção em águas residuais industriais, como pode ser observado na Tabela 3. Eles utilizaram duas cepas de diferentes espécies de microalgas - sendo uma delas a espécie em evidência neste estudo, *Chlorella vulgaris* (CV) - e três tipos de metais Al, Ni e Cu. O estudo foi dirigido em duas fases: na primeira fase o pH do meio foi controlado com quantidades de HNO₃ ou NaOH e a segunda foi utilizado um tratamento ácido com H₂SO₄ no intuito de observar se tratamento com ácido sulfúrico poderia apresentar melhorias na absorção de metais pela microalga.

Para que cepas tratadas com H₂SO₄ obtivessem resultados esperados, as cepas de *C.* apresentaram a eficiência de 87%, 79.1% e 80% para Al, Ni e Cu respectivamente, na remoção de metais das águas residuais. Já as que não tiveram o tratamento ácido pode-se observar uma queda tanto quanto significativas na eficiência de remoção dos metais sendo Al= 52%, Ni= 49% e Cu= 52% concluindo assim que a melhor opção é acidificar o meio para que seja obtido resultados melhores com a *Chlorella vulgaris*. Outros estudos feitos com os mesmos metais utilizados por Almomani e Bhosale (2020), apresentam resultados semelhantes aos de *C. vulgaris* que foram tratadas com ácido sulfúrico, isso devido a natureza ácida dos íons metálicos.

Zhao (2012) obteve 99% de eficiência na remoção de íons de Al com pH entre 2.5 e 5. Para o íon Ni o estudo feito por Piccini et al., (2019) não demonstrou tanta eficácia quanto o primeiro mencionado, apresentando apenas 50% de eficácia de remoção em pH 5-5.5 controlado com NaOH ou H₂SO₄.

Para o íon de Cu os estudos relataram que a melhor absorção do metal pelas células ocorre entre pH 2.5 e 7.5. (Goher et al., 2016; Koning-Peter et al., 2015; Piccini et al., 2019; Zhao, 2012).

Baseando-se em experimentos de absorção feitos com *Chlorella sorokiniana*, *C. vulgaris*, *A. platensis* e *A. maxima*, Blanco-Vieites et al., (2022) concluiu que estas espécies quando usadas na remoção de metais pesados obtém excelentes resultados e testou a capacidade de absorção de Fe pela *Arthrospira maxima*, no entanto o que chama atenção em seu estudo (além da espécie utilizada) foi que utilizou-se um pH básico (9.5-10) quando comparado com os demais.

Kumar, Singh e Sikandar (2020), utilizando variações de pH entre 3 e 8 concluíram que a absorção máxima do metal Hg pela *C. vulgaris* ocorreu em pH 6, pois, em pH 6 ocorre a desprotonação de ligantes negativos que consequentemente cria sítios de ligação livres para os metais, promovendo assim a absorção, Piccini et al., (2019) observou o mesmo fenômeno em polímeros, celulose, ácido algínico e pequenos polímeros de ácidos orgânicos como ácidos manurônico e gulurônico que são encontrados nas microalgas (estes grupos são complexados com metais embora também possa ocorrer o mesmo com polissacarídeos sulfatados como mencionado anteriormente).

Konig-Peter et al., (2016), comparou efeitos da biossorção de metais pesados por *Chlorella vulgaris* e *Spirulina platensis* e *S. maxima*. A faixa ótima de pH encontrada foi de 5-6 para Pb entre 4 e 6 para adsorção de Cu e Cd tendo aproximadamente ~80% de eficiência na remoção de íons metálicos de soluções testes preparadas com $Pb(NO_3)_2$, $Cd(NO_3)_2$ e $CuCl_2$, enquanto Travieso et al., (1998) mostrou que como faixa ótima para Cd, Cr e Zn, o pH ideal seria entre 6.9 e 7.2. Resultados que foram baixos quando comparados com Goher et al., (2016), que obteve uma eficiência de 99.4% para Pb em pH neutro (7.5) sendo possível observar que para Pb talvez seja melhor alcalinizar o meio ao invés de acidificar.

Nos estudos de Piccini et al., (2019), como pode ser observado na Tabela 4, os metais Cd, Cu, Ni e Zn foram escolhidos pela sua abundância na natureza e o pH foi ajustado para ficar constante entre 5 e 5.5. Mas o que chama atenção em sua pesquisa é que os autores além de analisar a absorção individual de cada metal, analisaram também a capacidade de remoção do metal por microalgas em solução contendo os 4 metais mostrando que quando em

soluções aquosas com múltiplos metais pode haver a diminuição na capacidade de remoção da microalga *Chlorella vulgaris* como pode ser observado na Tabela 4 os resultados obtidos.

Tabela 6: Eficiência de remoção dos metais em solução individual vs solução contendo os 4 metais

Metal	Eficiência de remoção solução individual (%)	Eficiência de remoção solução contendo os 4 metais (~%)
Cd	90%	~70%
Cu	85%	~85%
Ni	50%	~45%
Zn	78%	~50%

Fonte: Autoria própria

5.2.2 Temperatura e Luz

A temperatura é um importante fator no cultivo de microalgas e a absorção de metais pesados pela *Chlorella vulgaris* pode também ser afetada pela temperatura. Por serem encontradas nos mais variados tipos de ambiente, as microalgas podem ser classificadas como mesotróficas, termófilas e psicotróficas de acordo com a afinidade delas por determinada temperatura. Estudos mostram que o crescimento das algas pode variar entre as temperaturas ~15°C e 40°C sendo que a maioria das algas são capazes de sobreviver entre 10°C e 30°C e com taxa perfeita de crescimento entre 15°C e 25°C, temperaturas fora desta janela irão influenciar negativamente na taxa de crescimento das algas podendo até mesmo ocasionar na morte celular delas. (Bilal et al, 2018; Kaplan, 2013; Mohsenpour et al., 2020; König-Péter et al, 2015)

A temperatura também influencia diretamente no metabolismo celular e sua atividade enzimática. Assim como em outros microrganismos (bactérias e fungos), uma baixa na temperatura do ambiente o qual se localiza a microalga resulta-se na diminuição da capacidade metabólica. assim também como o

aumento brusco da temperatura pode ocasionar desnaturação dos componentes bioquímicos da célula, sendo assim é importante atentar-se a temperatura ideal de cultivo das algas. Embora temperaturas mais altas estejam geralmente associadas a maiores taxas de crescimento e aumento das taxas de absorção de nutrientes devido à maior atividade metabólica, essas condições nem sempre são compatíveis com as condições de tratamento de águas residuais. (Mohsenpour et al., 2020)

De acordo com Bilal et al, (2018) a temperatura também é um parâmetro importante que influencia o processo de absorção. A mudança na temperatura altera os parâmetros termodinâmicos, resultando na variação da capacidade de absorção das microalgas. A influência da temperatura no processo de absorção depende de sua natureza. Nos processos de sorção endotérmica, um aumento na temperatura leva a um aumento na bioabsorção; por outro lado, um aumento na temperatura diminui a bioabsorção no caso de processos de absorção exotérmica.

A manutenção de uma temperatura ótima em um processo de tratamento de efluentes com microalgas por meio de aquecimento artificial não é viável devido aos volumes excessivos e, portanto, ao enorme aporte de energia necessário. Portanto, as espécies de microalgas ou consórcios empregados para tratar as águas residuais devem ser selecionadas em sua capacidade de prosperar nas condições ambientais que são frequentadas na estação de tratamento (Mohsenpour et al., 2020).

No que diz respeito à iluminação, esta é essencial para a vida e manutenção das microalgas. A energia captada da luz conduz o processo de evolução de O_2 e de geração de Adenosina Trifosfato (ATP) e agentes redutores necessários para fixar CO_2 em carbono orgânico. Abaixo do ponto de saturação de luz, a taxa de atividade fotossintética é proporcional à irradiância em intensidade, com intensidades acima desse ponto causando foto inibição à medida que os sistemas receptores são danificados.

Apesar da importância da iluminação no crescimento e desenvolvimento de algas, poucos foram os autores que descreveram os métodos de

luminosidade utilizados em seus estudos, de forma geral foram utilizados (nos estudos em laboratório) lâmpadas fluorescentes de intensidade que variam entre 50 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. (Abdel-Razek et al, 2019; Afkar, Ababna, Fathi, 2010; Almomani, Bhosale, 2020; Blanco-Vieites et al, 2022; Goher et al, 2016; Mubashar et al, 2020; Plohn, Escudero-Onate, Funk, 2021; Travieso et al 1998; Zhao, 2012).

Tabela 7: Temperaturas utilizadas para cultivo e experimentos com *C. vulgaris*

Autores	Temperatura
Afkar, Ababna, Fathi, 2010	22 °C
Almomani, Bhosale, 2020	27 °C*
Blanco-Vieites et al, 2022	25 °C
Goher et al, 2016	25 °C
Konig-Péter et al, 2015	22 °C
Kumar, Singh, Sikandar, 2020	35 °C*
Piccini et al 2019	20 °C
Plohn, Escudero-Onate, Funk, 2021	20 °C
Travieso et al 1998	25 °C
Zhao, 2012	20 °C

Fonte: Aatoria própria, 2022

Dos autores que citaram a temperatura em que foi realizada o cultivo e procedimentos com a *C. vulgaris* é possível observar que apenas 3 dos autores estão com a temperatura fora da faixa de temperatura perfeita para crescimento imposta por Mohsenpour et al., (2020), em seus estudos, no entanto, todos estes citados apresentaram ótimos resultados quanto a remoção de metal pela microalga.

5.2.3 Sistemas e métodos de cultura

Os métodos de cultura das células de *C. vulgaris* podem também afetar a forma e a capacidade que estas têm no papel de bio-sorventes de metais pesados, visto que, quando em sistemas abertos é mais difícil de controlar

variantes como pH, temperatura, luminosidade entre outros, no entanto quando se trata de remoção dos metais *in loco* nos locais onde há a contaminação pelos íons normalmente estas variantes citadas não são levadas em consideração.

Tabela 8: Resumo dos diferentes sistemas, métodos e estratégias de cultivo de microalgas comumente usados. (Pacheco et al., 2020)

Cultivo de microalgas	Descrição
Sistema	
Sistema de Cultura Aberto	Lagoas, tanques, lagos e lagoas adutoras são exemplos de sistemas de cultivo abertos. Estes sistemas exteriores foram os primeiros e são os mais utilizados para produção de biomassa de microalgas devido à sua construção simples, fácil operação e baixa demanda de energia. No entanto, os sistemas de cultura aberta não só são afetados pelas condições climáticas e contaminação exterior, pois também apresentam baixa produtividade e perda de nutrientes por evaporação.
Sistema de Cultura Fechado	Os sistemas fechados são normalmente denominados por fotobiorreatores e caracterizam-se por não permitir trocas entre a cultura de microalgas e o ambiente externo, apresentando diferentes desenhos, como tubulares, sacos plásticos, placas planas e coluna de bolhas. Os sistemas de cultivo fechado superam alguns dos desafios enfrentados pelos sistemas abertos, como maior produtividade, menor evaporação de nutrientes e contaminação. No entanto, estes sistemas apresentam uma elevada demanda energética, sendo a sua implementação dispendiosa
Método	
Método de co-cultura	As microalgas existem na natureza como parte de uma comunidade, beneficiando-se da interação entre os microrganismos. Em um método de co-cultura, mais de uma espécie é cultivada no mesmo meio, portanto, deve-se levar em consideração que as espécies selecionadas possuem requisitos de crescimento semelhantes. Atualmente, a co-cultura de microalgas com leveduras ou bactérias têm mostrado potencial para aumentar a fitomediação e o rendimento de biomassa. Neste método de cultivo, as microalgas sintetizam maiores teores de exopolissacarídeos para apoiar o crescimento em condições hostis.

Método Imobilizado	Quando comparado com o cultivo de células livres de microalgas, o processo de imobilização pode superar o desafio da colheita de biomassa, garantindo que as substâncias metabólicas possam se difundir através da matriz de gel polimérico. No entanto, os custos do polímero e do processo de imobilização, acúmulo de produtos metabólicos e a eficiência da biorremediação são alguns dos inconvenientes deste método de cultivo. Ainda assim, estudos anteriores mostram o potencial de microalgas imobilizadas na biorremediação de efluentes e recuperação de metais.
Estratégia	
Batch	Trata-se de um sistema fechado simples e de estratégia de baixo custo, pois não requer muito controle. Essa estratégia é caracterizada pela não renovação do meio de cultura, de modo que a cultura da microalga cresce até atingir a fase de declínio. Na prática, a cultura pode falhar por vários motivos, como depleção de nutrientes e oxigênio, auto-sombreamento, variações de pH ou contaminação.
Semi-contínuo	Essa estratégia é como um sistema de bateladas, mas, neste caso, o meio de cultura é renovado periodicamente, enquanto o efluente é removido ao mesmo tempo. No entanto, esta estratégia pode não ser adequada para o cultivo de microalgas porque a luz é um fator limitante que afeta a produtividade da biomassa.
Contínuo	Uma estratégia contínua que consiste na renovação constante do meio de cultura, em que o volume de meio de cultura que é suplementado é igual ao volume de cultura que é retirado. A vantagem da renovação contínua do meio é a obtenção de alta produtividade de biomassa. Além disso, é fácil aumentar a escala para a produção industrial de microalgas devido à operação simples do sistema de cultivo.

Fonte: Autoria própria, 2022

5.3 Toxicidade dos metais

As algas são um grupo de organismos responsáveis por grande parte da produção de biomassa na terra. Muitos ecossistemas aquáticos estão ameaçados pela contaminação dos metais pesados pois ao contrário das plantas terrestres que conseguem absorver metais pesados pelas raízes fazendo que

com a transferência de íons tóxicos pela planta seja limitada, nas algas toda a superfície do organismo está exposta a íons de metais pesados.

As consequências que os metais pesados trazem a estes ecossistemas aquáticos podem ser perda da biodiversidade, aumento da bioacumulação e ampliação de tóxicos na cadeia alimentar (Afkar, Ababna e Fathi, 2010).

O metal pesado constitui um fator de estresse para muitos microrganismos onde as concentrações aumentaram como consequência de uma ampla gama de atividades agrícolas e industriais. Embora alguns desses metais sejam necessários para o crescimento celular, as altas concentrações de todos os metais exercem efeitos tóxicos na maquinaria metabólica das algas. (Afkar, Ababna e Fathi, 2010).

Considerando os estudos utilizados com os metais já mencionados anteriormente (Alumínio, Cádmio, Cromo, Cobre, Ferro, Mercúrio, Níquel, Chumbo e Zinco) e baseando-se no critério de densidade para classificação dos metais pesados que Nowicka (2022) menciona em seus estudos de toxicidade, os metais podem apresentar os seguintes efeitos sob as células vegetais:

5.3.1 Cádmio (Cd)

É um elemento não essencial, altamente tóxico para todos os organismos vivos e também tem maior mobilidade do que outros metais pesados devido a sua boa solubilidade em água salgada (Ackova, 2018; Kalaivanan and Ganeshamurthy 2016).

De acordo com Nowicka (2022), atividades antropogênicas lançam Cd de 3 a 10 vezes mais no meio ambiente do que processos naturais como vulcões. Seus efeitos tóxicos em algas se dão principalmente pelo sistema respiratório, pois o excesso deste elemento pode inibir e reduzir processos respiratórios em algas e plantas terrestres.

5.3.2 Chumbo (Pb)

A liberação antropogênica deste elemento tem sido uma fonte significativa de contaminação por Pb. O Pb é liberado como resultado da mineração, fundição, metalização, produção de papel, descarte de lodo de esgoto municipal e uso de combustíveis, explosivos e tintas contendo Pb. O Pb é um dos metais mais perigosos para a saúde humana. Para Nowicka (2022), na água do mar, o Pb não é tão perigoso devido a sua baixa solubilidade e baixa biodisponibilidade. Os efeitos tóxicos de Pb em células vegetais incluem distúrbios no crescimento e respiração e alterações morfológicas.

5.3.3 Cobre (Cu)

O Cobre é considerado um elemento essencial, porém em concentrações altas pode ser tóxico para organismos fotossintéticos (Nowicka, 2022), que apresentam distúrbios metabólicos quando o conteúdo intracelular é ligeiramente superior ao ideal. Sua toxicidade a algas se dá principalmente devido ao fato de ser mais móvel na água do que no solo (onde a maioria dos íons Cu estão ligados a componentes do solo).

O cobre é crucial para o funcionamento da fotossíntese, manutenção celular e processos respiratórios e metabólicos. Este elemento é também um componente estrutural em algumas proteínas regulatórias.

Nas microalgas verdes como a *C. vulgaris* são: ligação dos íons Cu à parede celular e metalotioneínas, bem como aumento da resposta antioxidante (Moenne et al., 2016) Algumas algas verdes respondem ao Cobre liberando compostos complexantes ao Cobre na água.

5.3.4 Cromo (Cr)

O Cromo (Cr) pode ocorrer em vários estados de oxidação; no entanto os mais estáveis e comuns são Cr (+3) e Cr (+6) sendo esta segunda forma

considerada a forma mais tóxica de Cr e geralmente ocorre como oxiânions, cromatos (CrO_4^{2-}) e dicromatos ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$). É muito utilizado principalmente em ligas, mas também em processos da indústria química como galvanoplastia, produção de pigmentos, curtimento de couro e tratamento de madeira e como resultado dessas aplicações Cr tornou-se um grave poluente ambiental. (Nowicka, 2022).

O Cr é um metal não essencial altamente tóxico para microrganismos e plantas. O cromato é levado para as células através do sistema de absorção de sulfato. Portadores de ânions não específicos também desempenham um papel na importação de Cr (+6). No caso do Cr (+3), mecanismos independentes de absorção foram observados nas plantas. As algas são capazes de acumular Cr. Foi demonstrado que as algas verdes retêm mais deste metal do que as algas marrons ou vermelhas. A toxicidade do Cr está relacionada às reações redox de seus íons dentro das células. De acordo com Nowicka (2022), o estresse induzido por Cr pode apresentar desde efeitos que diminuem taxas de fotossíntese e respiração celular, perturbação dos cloroplastos, estrutura celular e alterações no citoesqueleto. O dano oxidativo do DNA é também considerado um mecanismo responsável pela ação genotóxica do Cr.

5.3.5 Ferro (Fe)

O Ferro é o único macronutriente dentre os metais pesados. Assim, a principal causa da toxicidade do Fe é sua ação pró-oxidante. O excesso de Fe reduz a fotossíntese atividade e transpiração de água em plantas terrestres, em algumas espécies de plantas terrestres, a toxicidade do Fe está associada à deficiência de Zn, no entanto estudos em microalgas devem ser feitos para saber se é possível observar estes mesmos efeitos (Kalaivanan and Ganeshamurthy, 2016).

5.3.6 Mercúrio (Hg)

De acordo com Nowicka (2022) o mercúrio também está na lista entre os mais tóxicos dos metais pesados. Dentre os metais, Hg é o único devido à sua existência em diferentes formas: Hg^{2+} , Hg^+ , Hg^0 e organomercúrios como metil-

Hg, etil-Hg e fenil-Hg sendo os orgânicos as formas mais tóxicas do metal. Kumar, Singh e Sikandar (2020) não observaram nenhum efeito tóxico do Hg em culturas de *C. vulgaris* e concluíram que essa espécie é um bioissorvente promissor na remoção de metais pesados das águas residuais.

5.3.7 Níquel (Ni)

O Níquel (Ni) é encontrado em abundância em rochas como metal livre e como complexo com outros íons metálicos como Fe. Ni tem vários estados de oxidação variando de -1 a +4, mas em solo, água e em sistemas biológicos ocorre principalmente em sua forma catiônica Ni^{2+} . Atividades antropogênicas incluindo a mineração, fundição, queima de combustíveis fósseis, galvanoplastia, indústria de cimento, transporte e descarte de baterias resultam na contaminação com Ni (Shahzad et al. 2018; Almomani e Bhosale, 2020).

Os efeitos tóxicos de Ni observados incluem retardo no crescimento, cloroses e necroses. Outros sintomas observados em plantas terrestres expostas a quantidades excessivas de Ni foram anomalias cromossômicas e perturbação nas estruturas dos cloroplastos e núcleo.

Nos estudos abordados não houveram conclusões sobre os efeitos tóxicos deste metal em microalgas ou na espécie *C. vulgaris* especificamente.

5.3.8 Zinco (Zn)

O Zinco ocorre exclusivamente na forma iônica de Zn^{2+} . Normalmente pode ser mais encontrado em solos, componentes minerais como óxidos, fosfatos, carbonatos, sulfetos, sulfatos e silicatos. Suas fontes antropogênicas são mineração, queima de combustíveis fósseis, extração de calcário e fertilizantes. O estresse induzido por Zn em vegetais leva ao aumento de cloroses, aumento da síntese de antocianinas, necroses e inibição do crescimento e fotossíntese (Nowicka, 2022).

Dentre os estudos escolhidos para este trabalho não houve nenhum estudo que aborda a toxicidade do zinco em si sobre células vegetais ou mais especificamente sobre culturas de *Chlorella vulgaris*.

6 CONCLUSÃO

Observando os dados obtidos pelos artigos estudados, podemos concluir que a remoção de metais tóxicos de meio aquoso pode ser feita utilizando a biomassa da microalga *C. vulgaris* como biossorbentes. A capacidade das algas de absorver altas concentrações de metais pesados as torna candidatas adequadas para remover esses íons de águas residuais. As algas verdes são o ramo mais pesquisado por sua resposta a metais pesados, enquanto os experimentos realizados em outros grupos de algas são menos numerosos.

Estudos concluíram que a biossorção *C. vulgaris* é sim um método com bom custo-benefício e desempenha ótimo papel de agente biorremediador visto que seu cultivo não requer muitos cuidados especiais e a produção da biomassa pode ser feita em larga escala devido à alta velocidade de multiplicação da microalga.

Apesar das vantagens, alguns desafios precisam ser abordados, como por exemplo, destino da biomassa carregada com o metal pesados após a biossorção, métodos de descarte e possível reutilização da mesma. O papel dessa biomassa carregada pode ser abordado em futuros estudos.

Entretanto, embora existam algumas insuficiências na pesquisa, o uso da *C. vulgaris* na biorremediação é sim possível e se mostra com grande potencial pelo baixo custo envolvido na reprodução e cultivo de algas, no entanto é necessário que haja mais pesquisas voltadas para os pós processo. Além disso, a maioria dos experimentos foi feito em escala laboratorial, portanto, tratamentos em grande escala requerem mais estudos.

REFERÊNCIAS

AKSU Z., Sag Y., Kutsal, 1992. The biosorption of copper (II) by *Chlorella vulgaris* and *Zoogloea ramigera*. Environ Technol. 13: 579-86.

ABDELRAZEK, MOHAMED & M. ABOZEID, AHMED & ELTHOLTH, MAHMOUD & ABOUELENIEN, FATMA & EL-MIDANY, SAMI & MOUSTAFA, NADER & MOHAMED, RADI. Bioremediation of a pesticide and selected heavy metals in wastewater from various sources using a consortium of microalgae and cyanobacteria. (2019) Slovenian Veterinary Research. 56. 61–74. 10.26873/SVR-744-2019.

AFKAR, E., ABABNA, H. & FATHI, A. A. Toxicological Response of the Green Alga *Chlorella vulgaris*, to Some Heavy Metals. 2010. American Journal of Environmental Sciences, 6(3), 230-237. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2010.230.237>

ALLURI, HIMAKARNIKA & RONDA, SRINIVASA REDDY & SETTALLURI, VIJAYA & BONDILI, JAYAKUMAR & SURYANARAYANA, V. & VENKATESHWAR, P. Biosorption: An Eco-Friendly Alternative for Heavy Metal Removal. 2007. African Journal of Biotechnology (ISSN: 1684-5315) Vol 6 Num 25. 6. 10.4314/ajb.v6i25.58244.

ALMOMANI, F.; BHOSALE, RAHUL R.; Bio-sorption of toxic metals from industrial wastewater by algae strains *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris*: Application of isotherm, kinetic models and process optimization, Science of The Total Environment, Volume 755, Part 2, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142654>.

ANUSHREE, M. Metal bioremediation through growinh cells. Environment International, v.3, p.261-278, 2004.

Toxic Elements-A Review. Mar Drugs. 2018 Feb 19;16(2):65. doi: 10.3390/md16020065. PMID: 29463058; PMCID: PMC5852493.

BLANCO-VIEITES, M.; D. SUÁREZ-MONTES.; F. DELGADO.; M. ÁLVAREZ-GIL.; A. HERNÁNDEZ BATTEZ.; E. RODRÍGUEZ, Removal of heavy metals and hydrocarbons by microalgae from wastewater in the steel industry, Algal Research, Volume 64, 2022, 102700, ISSN 2211-9264, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102700>.

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

CHISTI, Y., 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnol Adv. 25: 294–396.

DAS, N., VIMALA, R., e KARTHIKA, P. (2008). Biosorption of heavy metals—an overview.

DUARTE, I. C. S. Influência do meio nutricional no crescimento e composição centesimal de *Chlorella* sp (Chlorophyta, Chlorococcales). 2001. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) — Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2001.

FARNANE, M. et al. Alkaline treated carob shells as sustainable biosorbent for clean recovery of heavy metals: Kinetics , equilibrium , ions interference and process optimisation. Ecological Engineering, v. 101, p. 9–20, 2017.

GOHER, MOHAMED & EL-MONEM, AHMED & ABDEL-SATAR, AMAAL & ALI, MOHAMED & HUSSIAN, ABD-ELLATIF & NAPIÓRKOWSKA-KRZEBIETKE, AGNIESZ.. Biosorption of some toxic metals from aqueous solution using non-living algal cells of *Chlorella vulgaris*. 2016. Journal of Elementology. 21. 703-714. 10.5601/jelem.2015.20.4.1037.

HAMEED, M.S.A., 2006. Continuous removal and recovery of lead by alginate beads, free and alginate-immobilized *Chlorella vulgaris*. African Journal of Biotechnology. 5 (19): pp. 1819-1823.

HAMEED, M.S.A., 2007. Effect of algal density in bead, bead size and bead concentrations on wastewater nutrient removal. African Journal of Biotechnology Vol. 6 (10), pp. 1185-1191.

JAYAKUMAR, R.; RAJASIMMAN, M.; KARTHIKEYAN, C. Optimization, equilibrium, kinetic, thermodynamic and desorption studies on the sorption of Cu (II) from an aqueous solution using marine green algae: *Halimeda gracilis*. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 121, p. 199–210, 2015.

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

KAPLAN, D. Absorption and Adsorption of Heavy Metals by Microalgae. In Handbook of Microalgal Culture. 2013. (eds A. Richmond and Q. Hu). <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch32>

KONIG-PETER, A.; KILÁR, F.; FELINGER, A.; PERNYESZI, T.; Biosorption characteristics of *Spirulina* and *Chlorella* cells for the accumulation of heavy metals, 2014. doi: 10.2298/JSC140321060P

KUMAR, M.; SINGH, K. A.; SINKADAR, M.; Biosorption of Hg (II) from aqueous solution using algal biomass: kinetics and isotherm studies. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03321>

KAYANO H, Matsunaga T, Karube I, Suzuki S., 1981. Hydrogen evolution by coimmobilized *Chlorella vulgaris* and *Clostridium butyricum* cells. Biochem Biophys Acta; 638:80–5.

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

LEE, R. E. *Phycology*. 2nd e.d. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 645p.

LEE, R. E. *Phycology*. 2nd e.d. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 645p.

MALIK, U., HASANY, S., E SUBHANI, M. Sorptive potential of sunflower stem for Cr(III) ions from aqueous solutions and its kinetic and thermodynamic profile. *Talanta*, v.1, p.166-173, 2005.

MANCUSO, P. C. S.; Santos, H. F., 2003. *Reuso de água*. 1. ed. São Paulo: Manole.

MOHAN, D. PITTMAN JR., C.U. Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents – A critical review. *Journal of Hazardous Material*, v. 142, n. 1-2, p. 1-53, ago, 2007.

MORENO-GARRIDO, I., 2008. Microalgae immobilization: current techniques and uses. *Bioresource technology*. 99; 3949-64.

MOSENPOUR, F. S.; HENNINGE, S.; WILLOUGHBY, N.; ADELOYE, A.; GUTIERREZ, T.; Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142168>.

MUBASHAR, M.; NAVEED, M.; MUSTAFA, A.; ASHRAF, S.; BAIG, S, K.; ALAMRI, S.; SIDDIQUI, H.; ZABOCHNICKA-SWIATEK, M.; SZOTA, M. KALAJI, H.; Experimental investigation of *Chlorella vulgaris* and *Enterobacter* sp. MN17 for decolorization and removal of heavy metals from textile wastewater. 2020. doi:10.3390/w12113034.

NOWICKA, B.; Heavy metal-induced stress in eukaryotic algae — mechanisms of heavy metal toxicity and tolerance with particular emphasis on oxidative stress in exposed cells and the role of antioxidant response. 2022. *Environmental Science and Pollution Research* (2022) 29:16860–16911. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18419-w>

ORTENZIO, Y. T.; AMARAL, G. G.; ALMEIDA, S. S.; OLIVEIRA, E. C. A. M. Cultivo de microalgas utilizando resíduos agroindustriais para a produção de biocombustíveis: perspectivas e desafios. *Bioenergia em revista: diálogos*, 2015. ano 5, n. 1, p. 58-65, jun.

PACHECO, D.; ROCHA, A. C.; PEREIRA, L.; VERDELHOS, T.; Microalgae water bioremediation: Trends and Hot topics. 2020. *Appl. Sci.* 2020, 10, 1886; doi:10.3390/app10051886

PICCINI, M.; RAIKOVA, S.; ALLEN, J. M.; CHUCK, C.; A synergistic use of microalgae and macroalgae for heavy metal bioremediation and bioenergy production through hydrothermal liquefaction. 2019. DOI: 10.1039/c8se00408k.

PLOHN, M.; ESCUDERO-ONATE, C.; FUNK, C.; Biosorption of Cd (II) by nordic microalgae: Tolerance, kinetics and equilibrium studies. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102471>

PASCALICCHIO, Á. A. E. Contaminação por metais pesados: saúde pública e medicina ortomolecular. São Paulo: Annablume, 2002.

PIMENTA, S. F. P. Comparação entre a biorremediação de água natural e água residual utilizando *Chlorella vulgaris*. Dissertação de Mestrado de Faculdade de Ciências — Universidade do porto. 2012. p. 111.

RAYMUNDO, A.; GOUVEIA, L.; BATISTA, A. P.; EMPIS, J.; SOUZA, I. Fat mimetic capacity of *Chlorella vulgaris* biomass in oil-in-water food emulsions stabilized by pea protein. *Food Research International*, v. 38, p. 961-965, 2005.

SAFI, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., e Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278.

TAM, N.F.Y., Wong, Y.S., Simpson, C.G., 1998. Repeatedly removal of copper by alginate beads and the enhancement by microalgae. *Biotechnology Techniques*. 12, 187–190.

TRAVIESO, L & CAÑIZARES-VILLANUEVA, ROSA & BORJA, R. & BENÍTEZ, F & DOMÍNGUEZ-BOCANEGRA, ALMA & Y, R. & VALIENTE, V. (1999). Heavy Metal Removal by Microalgae. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 62. 144-51. 10.1007/s001289900853.

WANG, B. & LAN, C.Q., Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. *Bioresource technology*, 2011. v. 102: p. 5639-5644.

WIKSTROM P, Szwajcer E, Brodelius P, Nilsson K, Mosbach K., 1982. Formation of keto acids from amino acids using immobilized bacteria and algae. *Biotechnol Lett*. 4:153–8.

YI, Z. et al. Uranium biosorption from aqueous solution onto *Eichhornia crassipes*. *Journal of Environmental Radioactivity*, v. 154, p. 43–51, 2016.

ZHAO, Y.; Heavy metals in wastewater: Their removal through algae adsorption and their roles in microwave-assisted pyrolysis of algae. 2012. 8p-25p