

Jorge González Aguilera

Alan Mario Zuffo

(Organizadores)

A Preservação do Meio Ambiente e o Desenvolvimento Sustentável

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Karine de Lima
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
P933	A preservação do meio ambiente e o desenvolvimento sustentável [recurso eletrônico] / Organizadores Jorge González Aguilera, Alan Mario Zuffo. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (A Preservação do Meio Ambiente e o Desenvolvimento Sustentável; v. 1) Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-536-5 DOI 10.22533/at.ed.365191408 1. Educação ambiental. 2. Desenvolvimento sustentável. 3. Meio ambiente - Preservação. I. Aguilera, Jorge González. II. Zuffo, Alan Mario. III. Série. CDD 363.7
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

Atena
Editora

Ano 2019

APRESENTAÇÃO

A obra “A Preservação do Meio Ambiente e o Desenvolvimento Sustentável” no seu primeiro capítulo aborda uma publicação da Atena Editora, e apresenta, em seus 25 capítulos, trabalhos relacionados com preservação do meio ambiente e o desenvolvimento sustentável.

Este volume dedicado à preservação do meio ambiente e o desenvolvimento sustentável, traz uma variedade de artigos que mostram a evolução que tem acontecido em diferentes regiões do Brasil ao serem aplicadas diferentes tecnologias que vem sendo aplicadas e implantadas para fazer um melhor uso dos recursos naturais existentes no país, e como isso tem impactado a vários setores produtivos e de pesquisas. São abordados temas relacionados com a produção de conhecimento na área de agronomia, robótica, química do solo, computação, geoprocessamento de dados, educação ambiental, manejo da água, entre outros temas. Estas aplicações e tecnologias visam contribuir no aumento do conhecimento gerado por instituições públicas e privadas no país.

Aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e tecnológicos na Preservação do Meio Ambiente e o Desenvolvimento Sustentável, os agradecimentos dos Organizadores e da Atena Editora.

Por fim, esperamos que este livro possa colaborar e instigar mais estudantes e pesquisadores na constante busca de novas tecnologias para a área do meio ambiente e o desenvolvimento sustentável, assim, contribuir na procura de novas pesquisas e tecnologias que possam solucionar os problemas que enfrentamos no dia a dia.

Jorge González Aguilera
Alan Mario Zuffo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
AJUSTE DE MODELOS HIPSOMÉTRICOS PARA AZADIRACHTA INDICA A. JUSS EM RESPOSTA AO MÉTODO DE CULTIVO NO NORDESTE BRASILEIRO	
Luan Henrique Barbosa de Araújo José Antônio Aleixo da Silva Gualter Guenther Costa da Silva Rinaldo Luiz Caraciolo Ferreira José Wesley Lima Silva Camila Costa da Nóbrega Ermelinda Maria Mota Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.3651914081	
CAPÍTULO 2	12
ALTERNATIVAS SUSTENTÁVEIS PARA RECUPERAÇÃO DE VOÇOROCAS NO MUNICÍPIO DE COMODORO – MT	
Jucilene Ferreira Barros Costa Valcir Rogério Pinto Elaine Maria Loureiro Cláudia Lúcia Pinto	
DOI 10.22533/at.ed.3651914082	
CAPÍTULO 3	25
AMBIENTALISMO, SUSTENTABILIDADE DENTRO DOS PENSAMENTOS DE AZIZ AB`SABER E JEAN PAUL METZGER, DIANTE DO NOVO CÓDIGO FLORESTAL (12651/2012), COM A AVALIAÇÃO E IMPORTÂNCIA DO C.A.R (CADASTRO AMBIENTAL RURAL)	
Giuliano Mikael Tonelo Pincerato Marcio Túlio	
DOI 10.22533/at.ed.3651914083	
CAPÍTULO 4	38
ANÁLISE EXPLORATÓRIA E DESCRITIVA DAS DIMENSÕES DA ECOINOVAÇÃO: ESTUDO EM HABITATS DE INOVAÇÃO DO SUDOESTE DO PARANÁ	
Jaqueline de Moura Stephanye Thyanne da Silva Andriele de Prá Carvalho Paula Regina Zarelli	
DOI 10.22533/at.ed.3651914084	
CAPÍTULO 5	44
APLICAÇÃO DA ROBÓTICA NA MONITORAÇÃO AMBIENTAL	
Alejandro Rafael Garcia Ramirez Jefferson Garcia de Oliveira Tiago Dal Ross Fernandes	
DOI 10.22533/at.ed.3651914085	

CAPÍTULO 6	58
ARRANJO PRODUTIVO LEITEIRO COMO FORMA DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL E PRESERVAÇÃO AMBIENTAL DE UMA REGIÃO DO INTERIOR DO CEARÁ	
Erica Nobre Nogueira Daniel Paiva Mendes Sérgio Horta Mattos Valter De Souza Pinho Danielle Rabelo Costa	
DOI 10.22533/at.ed.3651914086	
CAPÍTULO 7	68
AVALIAÇÃO DA REMEDIAÇÃO DE ÁGUA POLUÍDA POR AZUL DE METILENO COM CASCAS DE BANANA DE ESPÉCIES VARIADAS	
Rayssa Duarte Costa Jéssica Caroline da Silva Cintya Aparecida Christofolletti	
DOI 10.22533/at.ed.3651914087	
CAPÍTULO 8	76
BIOCOMBUSTÍVEIS: RELEVÂNCIA PARA O MEIO AMBIENTE	
Eduarda Pereira de Oliveira Lucíola Lucena de Sousa	
DOI 10.22533/at.ed.3651914088	
CAPÍTULO 9	80
BIOMARCADORES PARA O MONITORAMENTO AMBIENTAL DE ECOSISTEMAS AQUÁTICOS	
Lígia Maria Salvo José Roberto Machado Cunha da Silva Divinomar Severino Magda Regina Santiago Helena Cristina Silva de Assis	
DOI 10.22533/at.ed.3651914089	
CAPÍTULO 10	92
BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL E DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA SUSTENTÁVEL	
Bruno Vinicius Daquila Helio Conte	
DOI 10.22533/at.ed.36519140810	
CAPÍTULO 11	106
DESAFIOS DA CONSOLIDAÇÃO TERRITORIAL EM UNIDADE DE CONSERVAÇÃO NA AMAZÔNIA: UMA EXPERIÊNCIA DE DEMARCAÇÃO E GEORREFERENCIAMENTO NA RESERVA EXTRATIVISTA DO CAZUMBÁ-IRACEMA	
Carla Michelle Lessa Márcio Costa Patrícia da Silva Tiago Juruá Damo Ranzi Aldeci Cerqueira Maia Fabiana de Oliveira Hessel	
DOI 10.22533/at.ed.36519140811	

CAPÍTULO 12..... 116

DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL E ECONOMIA CIRCULAR: CONTRIBUIÇÃO PARA A GESTÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS EM UM CENTRO URBANO

Anny Kariny Feitosa
Júlia Elisabete Barden
Odorico Konrad
Manuel Arlindo Amador de Matos

DOI 10.22533/at.ed.36519140812

CAPÍTULO 13..... 124

DISSEMINAÇÃO DE HORTAS ORGÂNICAS E ALIMENTAÇÃO CONSCIENTE

Franciele Mara Lucca Zanardo Bohm
Paulo Alfredo Feitoza Bohm
Guilherme de Moura Fadel
Sarah Borsato Silva
Sofia Alvim

DOI 10.22533/at.ed.36519140813

CAPÍTULO 14..... 133

FLOCULAÇÃO DE LODO DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ÁGUA POR FLOCULADORES TUBULARES HELICOIDAIS

Manoel Maraschin
Keila Fernanda Soares Hedlund
Andressa Paolla Hubner da Silva
Elvis Carissimi

DOI 10.22533/at.ed.36519140814

CAPÍTULO 15..... 143

GEOTECNOLOGIA APLICADA À PERÍCIA AMBIENTAL: ESTUDO DE CASO DA BACIA DO RIO CAPIM

Gustavo Francesco de Moraes Dias
Fernanda da Silva de Andrade Moreira
Tássia Toyoi Gomes Takashima-Oliveira
Dryelle de Nazaré Oliveira do Nascimento
Diego Raniere Nunes Lima
Renato Araújo da Costa
Giovani Rezende Barbosa Ferreira

DOI 10.22533/at.ed.36519140815

CAPÍTULO 16..... 152

IMPLANTAÇÃO DAS MEDIDAS DE ENCERRAMENTO DOS LIXÕES DO ESTADO DO ACRE – CIDADES SANEADAS

Vângela Maria Lima do Nascimento
Patrícia de Amorim Rêgo
Marcelo Ferreira de Freitas
Jakeline Bezerra Pinheiro

DOI 10.22533/at.ed.36519140816

CAPÍTULO 17	165
LOGÍSTICA REVERSA E LEGISLAÇÃO AMBIENTAL DOS PNEUS INSERVÍVEIS NO BRASIL	
Camila Simonetti Anderson Leffa Bauer Fernanda Pacheco Bernardo Fonseca Tutikian	
DOI 10.22533/at.ed.36519140817	
CAPÍTULO 18	177
MAPEAMENTO DE BIÓTOPOS APLICADO À CONSERVAÇÃO - PLANEJAMENTO AMBIENTAL COM RASTREABILIDADE CARTOGRÁFICA	
Markus Weber Leonardo Cardoso Ivo Allan Christian Brandt	
DOI 10.22533/at.ed.36519140818	
CAPÍTULO 19	190
O AGRO QUE NÃO É “POP”: A VERDADE SILENCIADA	
Tatiane Rezende Silva Carlos Vitor de Alencar Carvalho Viviane dos Santos Coelho Ronaldo Figueiró	
DOI 10.22533/at.ed.36519140819	
CAPÍTULO 20	199
O USO DO MÉTODO DE INTERCEPTO DE LINHA PARA O MONITORAMENTO DA RECUPERAÇÃO DO ECOSSISTEMA DE DUNAS DO PARQUE ESTADUAL DE ITAÚNAS	
Schirley Costalonga Scheylla Tonon Nunes Frederico Pereira Pinto	
DOI 10.22533/at.ed.36519140820	
CAPÍTULO 21	207
PAISAGISMO ECOSSISTÊMICO: DESIGN DE ESTRUTURAS VERDES	
Gustavo D’Amaral Pereira Granja Russo Dalva Sofia Schuch	
DOI 10.22533/at.ed.36519140821	
CAPÍTULO 22	215
PRODUÇÃO DE HIDRATOS DE DIÓXIDO DE CARBONO E DE METANO	
Aglaer Nasia Cabral Leocádio Nayla Xiomara Lozada Garcia Lucidio Cristovão Fardelone Daniela da Silva Damaceno José Roberto Nunhez	
DOI 10.22533/at.ed.36519140822	

CAPÍTULO 23	239
SÍNTESE DE HDL DE MAGNÉSIO PARA RECUPERAÇÃO DO CAROTENOIDE DO ÓLEO DE PALMA Iris Caroline dos Santos Rodrigues Marcos Enê Chaves de Oliveira Jhonatas Rodrigues Barbosa	
DOI 10.22533/at.ed.36519140823	
CAPÍTULO 24	249
USLE COMO FERRAMENTA PARA PLANEJAMENTO DE USO DO SOLO: ESTUDO DE CASO BACIA CACHOEIRA CINCO VEADOS, RS Elenice Broetto Weiler Jussara Cabral Cruz José Miguel Reichert Fernanda Dias dos Santos Bruno Campos Mantovanelli Roberta Aparecida Fantinel Marilia Ferreira Tamiosso Edner Baumhardt	
DOI 10.22533/at.ed.36519140824	
CAPÍTULO 25	263
AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA BIORREMEDIAÇÃO EM TERMOS DE REMOÇÃO DA ECOTOXICIDADE ASSOCIADA AO SEDIMENTO SEMA Odete Gonçalves Paulo Fernando de Almeida Cristina Maria A. L. T. M. H. Quintella Ana Maria Álvares Tavares da Mata	
DOI 10.22533/at.ed.36519140825	
SOBRE OS ORGANIZADORES	281
ÍNDICE REMISSIVO	282

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA BIORREMEDIAÇÃO EM TERMOS DE REMOÇÃO DA ECOTOXICIDADE ASSOCIADA AO SEDIMENTO SEMA

Odete Gonçalves

Universidade Federal da Bahia, Departamento de Ciências da Biointeração, Instituto de Ciências da Saúde, UFBA. Salvador-Bahia.

Paulo Fernando de Almeida

Universidade Federal da Bahia, Departamento de Ciências da Biointeração, Instituto de Ciências da Saúde, UFBA. Salvador-Bahia.

Cristina Maria A. L. T. M. H. Quintella

Universidade federal da Bahia, Departamento de Físico/Química, Instituto de Química. UFBA. Salvador-Bahia.

Ana Maria Álvares Tavares da Mata

Instituto Politécnico de Setúbal. Escola Superior de Tecnologia de Setúbal, IPS. Setúbal-Portugal.

RESUMO: Na problemática da indústria de produção pode-se citar os resíduos gerados e sua destinação ao meio ambiente, conseqüentemente a contaminação ambiental como a indústria de mineração na geração de resíduos minerais. Houve um acidente com rompimento da Barragem de Fundão, de rejeitos de mineração de ferro, no município de Mariana/MG. Foram utilizados para no processo de biorremediação os rejeitos de mineração com um consórcio microbiano no qual se obteve o sedimento biorremediado e os produtos biopolímero, cristais residuais. Após caracterização se avalia aqui a eficácia

da biorremediação e validação do processo e produto com teste de ecotoxicologia a fim de viabilizar estes ou seus compostos moleculares para o setor industrial, fármacos, cosméticos, petrolífero e compostos de serviços/processos, conforme sua aplicação. Neste contexto, este trabalho avalia a inibição do crescimento das microalgas *Pseudokirchneriella subcapitata* com as amostras estudadas. Foram feitos cinco testes no rejeito de mineração em culturas triplicatas e em ambiente estéril. A leitura da absorvência a 450 nm em espectrofotômetro na gama UV-VIS com o período do teste por 72:00h. Se aplicou a equação DESVPAD com o cálculo. A microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* apresentou 51% de redução da ecotoxicidade no sedimento biorremediado rejeito de mineração-SEMA. Confirma assim, menor toxicidade, o que se torna importante para a validação do processo de biorremediação e atende aos principais requisitos para o desenvolvimento sustentável.

PALAVRAS-CHAVE: Ecotoxicologia. Microalgas. Biorremediação. Residual de Mineração

ABSTRACT: In the problem of the production industry can be mentioned the waste generated and its destination to the environment, consequently the environmental contamination as the mining industry in the generation of

mineral waste. There was an accident with rupture of the Fundão Dam, from iron ore tailings, in the municipality of Mariana / MG. In the bioremediation process, mining wastes were used with a microbial consortium in which the bioremediated sediment was obtained and the biopolymer products, residual crystals. After characterization, the efficacy of bioremediation and validation of the process and product with ecotoxicology test is evaluated in order to make these or their molecular compounds feasible for the industrial sector, pharmaceuticals, cosmetics, petroleum and composites and services processes, according to their application. In this context, this work evaluates the inhibition of the growth of the microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* with the samples studied. Five tests were done on the mining tailings in triplicate cultures and in a sterile environment. Absorbance reading at 450 nm in a spectrophotometer in the UV-VIS range with the test period at 72: 00h. The STDEV equation was applied with the calculation. The microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* presented 51% reduction of ecotoxicity in the bioremediated sediment-mining-SEMA sediment. It confirms, therefore, less toxicity, which becomes important for the validation of the bioremediation process and meets the main requirements for sustainable development.

KEYWORDS: Ecotoxicology. Microalgae. Bioremediation. Residual of Mining.

1 | INTRODUÇÃO

A fim de sanar a problemática ambiental, diversas técnicas, físicas, químicas e biológicas, estão sendo desenvolvidas, possibilitando a remoção ou a degradação in-situ ou ex-situ de petróleo derramado e rejeitos potencialmente tóxicos, reduzindo assim seus efeitos nocivos sobre o ecossistema. Segundo, Bento (2003), a biorremediação é uma alternativa viável e promissora para o tratamento de solos contaminados. 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). Esta técnica usa bactérias, fungos ou plantas para degradar ou desintoxicar substâncias perigosas para a saúde humana e/ou o ambiente. Os autores Aislabe (2004) e Marín (2006) vêm alertando, quanto a necessidade de estudos específicos relacionadas com a remediação de sítios contaminados.

A Ecotoxicidade atualmente está sendo útil como meio de avaliar os solos, ambientes aquáticos entre outros, para isso programas de monitoramento em ambientes aquáticos têm sido desenvolvido utilizado peixes e bivalves, nos quais os organismos indicam o grau de contaminantes tóxicos existentes, sendo portanto os biomonitores ambientais (CAJARAVILLE et al., 2000). Os autores salientam que estes (mexilhões e ostras) possuem características biológicas e ecológicas potencializadas para a utilização como biomonitores (CHEUNG et al., 2001; NIYOGI et al., 2001; MORILLO; USERO; GRACIA, 2004). Também a Ecotoxicidade se mostra eficiente no processo de investigação pela fitotoxicidade, na qual foi utilizada a *Lactuca sativa* em ensaios/teste de germinação de crescimento (JUSTINO et al., 2009).

Ultimamente em recentes décadas, é crescente os estudos de ecotoxicidade como meio de mapear as partículas em meio aquático sobretudo o advindo dos efeitos das transformações em nanopartículas, cujo estudo está a indicar que há um maior estresse em água doce em vez de água salgada ou terrestre espécies. (CORSI et al., 2014; LIBRALATO, 2014; MINETTO et al., 2014; LOFRANO et al., 2016). Ao que se conclui que a água salgada possui uma matriz complexa que impulsiona as nanopartículas (metais-traço ou não) para a instabilidade e conseqüentemente promove a rápida reação com formação de formas aglomeradas/precipitadas (CALLEGARO et al., 2015). Entretanto, Guilherme, *et al.*, (2005) através de estudos, concluiu que, em determinadas concentrações ou associações alguns metais pesados, identificados como elementos-traço, podem ser necessários ao metabolismo dos micro-organismos.

As microalgas são normalmente utilizadas em testes bioensaios toxicológicos pelo fato de serem sensíveis a substâncias estressoras de diferentes tipos de poluição, tornando-as de suma importância para o monitoramento ecológico ambiental, sabendo-se que estas se mostram limitantes quanto as variáveis de iluminação e aeração para o seu crescimento, (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2003; SIPAÚBA-TAVARES *et al.*, 2009).

Estudos apontam que os testes de ecotoxicologia terrestre visam mapear os possíveis impactos de substâncias ou resíduos que diariamente contaminam o ambiente como os pesticidas e lodos de esgoto (FÖRSTER *et al.*, 2004; DOMENE ET AL., 2007); outrossim almejam avaliar os metais pesados ou petróleo e seus efeitos destrutivos nas contaminações de áreas ambientais já impactadas (LUZ *et al.*, 2004). Araújo e Monteiro (2007), alerta para alterações, com o uso excessivo de pesticidas, fertilizantes, resíduos urbanos e industriais.

De modo geral as algas são organismos presentes em ecossistemas aquáticos, onde elas incorporam energia solar em biomassa, realizando a fotossíntese, são autótrofos, produzem oxigênio, sendo estruturalmente menores e menos complexos do que as plantas predominantemente terrestres (GRAHAM; WILCOX, 2000). Existem vários grupos taxonômicos de microalgas marinhas, entretanto os principais componentes do fitoplâncton marinho são as diatomáceas e os dinoflagelados (LOBBAN; HARRISON; DUNCAN, 1985).

Para este trabalho foram utilizadas as espécies microalga ***Pseudokirchneriella subcapitata*** que é uma microalga unicelular, uma cultura de algas verdes com células lunadas, muito sensível a substâncias tóxicas, incluindo metais em ambientes de água doce (MILLER, *et al.*, 1978). A avaliação do impacto ecotoxicológicos é permitida por um método para determinar os efeitos dos tóxicos quando da redução do crescimento de microalgas. Esta ocorre durante o período exponencial de seu crescimento, durante 72 horas, como resposta da exposição a várias concentrações de uma substância de teste.

O objetivo deste trabalho é avaliar a eficácia da biorremediação em termos da remoção da ecotoxicidade associada ao sedimento rejeito de mineração-SEMA, e

os possíveis efeitos de toxicidade das amostras sobre o crescimento de microalgas *Pseudokirchneriella subcapitata* de água doce em meio estéril.

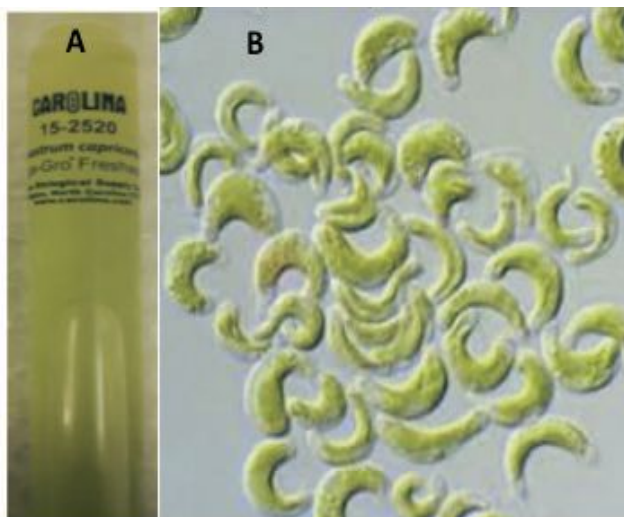
2 | MATERIAL E MÉTODOS

Adaptação da metodologia utilizada – O teste de ecotoxicidade utilizado foi adaptado do regulamento Jornal (anexo) EC 761/2009-anexo IV (método equivalente ao OECD TG 201). Os organismos de ensaio em fase de crescimento exponencial são expostos à substância em estudo em culturas em meio líquido, entre 72 a 96 horas. A biomassa das culturas de controle deve aumentar exponencialmente num fator de pelo menos 16 durante as 72 horas de ensaio. Esse valor corresponde a taxa de crescimento específica de 0,92 dia⁻¹.

O princípio do ensaio baseia-se em determinar os efeitos de uma substância sobre o crescimento de cianobactérias e/ou microalgas de água doce. Como resposta do sistema é observado a redução do crescimento numa série de cultura de microalgas. Determinada as taxas médias de crescimento específico registradas numa série de soluções de ensaio, a concentração que causa uma inibição da taxa de crescimento de x % (p. ex.: 50 %) é decodificada e expressa como $E_r C_x$ (nesse caso, $E_r C_{50}$). Sabendo que o ensaio de controle (ausência da substância) é essencial para este cálculo, sendo a taxa de crescimento de referência. A biomassa inicial para a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* foi a concentração de 5×10^3 - 10^4 células/mL. As séries de concentrações estima-se uma gama que cause uma inibição de 5-75 % de crescimento. Ensaio e controle foram conduzidos com três replicados.

Soluções e Inóculo - Meio de crescimento: MBL Medium – Foi utilizado o meio MBL Medium (NICHOLS, 1973), os quais contém vitaminas que auxiliam no crescimento de células com potencial de aumento de 16 vezes mais em 3 dias. A solução MBLx2 foi esterilizada (121°C, por 15 min) em frasco *SHOT*.

As cepas das microalgas foram procedentes por aquisição junto a empresa CAROLINA 15-2520, em meio de cultura Alga-Gro® Freshwater (Figura 1A e 1B), como sendo a temperatura de crescimento ideal em 22 graus Celsius em um alto nível de luz de 200 a 400 pés de luz fluorescente 18 a 24 “da cultura para este organismo-teste. *Pseudokirchneriella subcapitata* foram as espécies utilizadas que é uma microalga unicelular, uma cultura de algas verdes com células lunadas, muito sensível a substâncias tóxicas, incluindo metais em ambientes de água doce. Esta espécie, tornou-se requisitada cientificamente em estudos de avaliação, ecotoxicidade de agentes químicos (MILLER, et al., 1978).



Figuras 1A e 1B – 1A Apresenta embalagem da aquisição das microalgas junto a empresa CAROLINA 15-2520, em meio de cultura Alga-Gro® Freshwater. 1B Foto das microalgas quanto a cor e formato que se apresentam.

Autor: www.google.com

Para adaptar as microalgas às condições de ensaio e garantir que se encontrem na fase de crescimento exponencial, foi preparada a cultura de inóculo com verificação dos padrões normais conforme método para a estirpe. **Preparação da solução mãe 1** – As manipulações são feitas em condições estéreis, perto de uma chama e com vasos previamente esterilizados por autoclave. Foram colocadas as microalgas mães para crescer, proporcional à 10 ml em 250 ml, acondicionados 2 balões estéril de 500 ml em solução aquosa.

Preparação da solução mãe 2 – Inicialmente foi feito a leitura da absorvência da solução mãe 1, após os 3 dias de crescimento. A partir do valor obtido, foi calculado a quantidade de solução mãe 1 para obter uma absorvência entre 0,1 e 0,2 para solução mãe 2.

Justificativa para a escolha das amostras – Foram selecionadas para estudos as amostras advindas do acidente rompimento da Barragem de Fundão, contendo 65 milhões de m³ de rejeitos de mineração de ferro, no município de Mariana/MG, codificado aqui como Sedimento de Mariana – SEMA, por ser um rejeito rico em inorgânicos (CPRM - 2015). Os rejeitos inorgânicos afetaram os cursos de água e solos a jusante. A biorremediação, portanto, tornou-se uma alternativa promissora, ecologicamente correta (ATLAS, 1995), buscando explorar a diversidade genética e a versatilidade metabólica microbiana para a transformação de contaminantes com eficiência na degradação dos poluentes. Como a redução destes rejeitos é de suma importância para os ciclos biogeoquímicos naturais, se realizou um processo de biorremediação com consórcio microbiano constituído de fungos das espécies *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp, envolvendo um protótipo “Estação de Tratamento” com objetivo de recuperar sedimento impactado, reduzindo os contaminantes inorgânicos.

A fim de possibilitar uma melhor qualidade de vida, devolvendo aos seres um habitat mais natural o meio ambiente saudável foi construído o protótipo “Estação de Tratamento” de “frame” metálico 1,50m L x 1,30m P x 1,30m A (BR PI BR 10 2012 033531 0). Possui uma abertura superior para a injeção do consórcio microbiano e abertura lateral para remoção e descontaminação. Contém o espalhamento, recipiente com 0,90 m X 0,60 m com abertura para queda livre e pressão no fosso levando ao tanque reservatório de 41 cm X 36 cm com profundidade de 34 cm, para o processo de mineralização e solubilização dos mineralóides.

Além da redução da toxicidade dos resíduos há ainda a possibilidade de reciclar os compostos inorgânicos para emprego em compósitos industriais como matéria prima. Isto porque, foi obtido na biorremediação a produção de biopolímeros e outros bioativos cristalizados supostamente com aplicação em biotecnologia e materiais. Portanto, em protótipo, foi feito processo de biorremediação, com a aplicação de consórcio microbiano (BR PI 1004444-2 A2, 2010, INPI) e se obteve a produção de biopolímeros (BR, PI 11 05 932-0, 2011) (Figura 2A), cristais residuais (BR PI 11 05 934-6, 2011) (Figura 2 B) e sedimento biorremediado (Figura 2 C). As amostras foram caracterizadas por instrumentos analíticos como RMN, FT-IR, MEV (Tabela 1), Difractometria de Raios-X entre outros, se encontram em quantidade disponível.

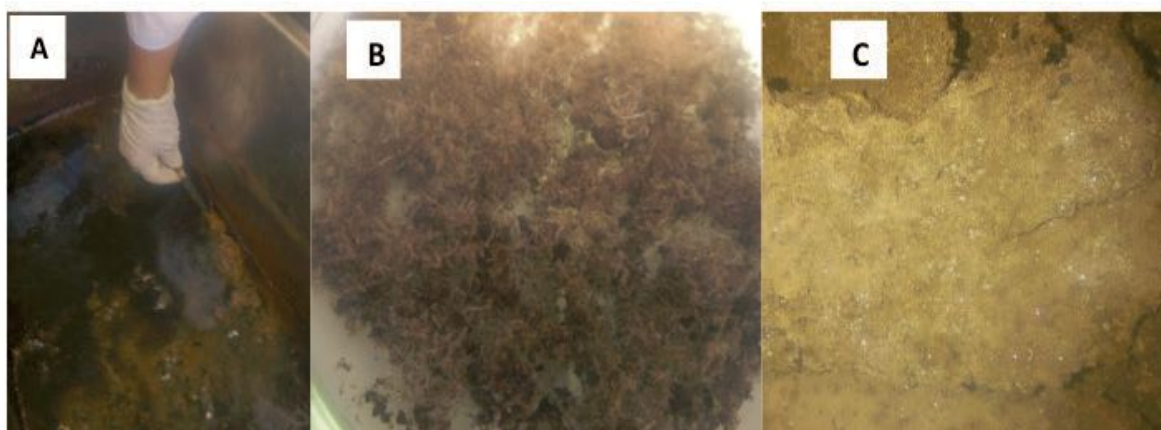


Figura 2A, 2B, 2C. - **2A.** Produção de biopolímeros em tanque reservatório do protótipo reservatório experimental; **2B.** Sintetização de cristais residuais, após 90 dias de biorremediação; **2C.** Sedimento biorremediado, resultante da biorremediação com aglomerações de inorgânicos.

Fonte: autoria própria

Elementar	Concentração %	Massa/Peso %
Oxigênio	34,36	42,22
Alumínio	2,98	5,55
Silício	9,53	17,59
Potássio	0,34	0,63
Ferro	15,00	34,00

Tabela 1. Sedimento SEMA inorgânico Elementar analisado por MEV

Autor: autoria própria.

Sendo assim, para melhor comparação de dados e com compromisso de analisar cada uma das amostras com seu percentual de toxicidade, foram formados dois blocos de análises. Inicialmente com 3 testes de ensaio (Testes 1, 2 e 3), durante 3 dias (72:00 h) e outro com 2 testes de ensaio (Testes 3 e 4) durante 4 dias (96:00 h).

Preparação das amostras com a substância em estudo - Como são amostras sólidas resultantes de biorremediação de rejeitos inorgânicos, utilizou-se conforme a literatura, método OECD TG 20, 10g/L. Foram pesados 2g de cada amostra estas foram colocadas em Erlenmeyer para serem diluído em 100 mL de água destilada em uma proveta. Em seguida foi transferido para um Erlenmeyer de 250 mL com bagueta e colocado para agitar por 1 hora (Figura 3A). Sendo em seguida colocadas em proveta de 100 mL para descanso e decantação (Figura 3B), foi filtrada com cuidado para não arrastar sólidos. Após este período, para as amostras ainda com forte coloração, foi centrifugado no aparelho Kendro/Hareus Biofuge, em 5.000 rotações por tempo 5 min, à 24°C de temperatura; sendo portanto filtrado, tornando a solução límpida e colocado em tubo de ensaio para ser esterilizado em autoclave à 121°C por 15 min. Para cada solução filtrada da amostra, 100 mL de água destilada para 17 Erlenmeyer de 50 mL e 3 Erlenmeyer de 250 mL, na proporção 50% / 50%.

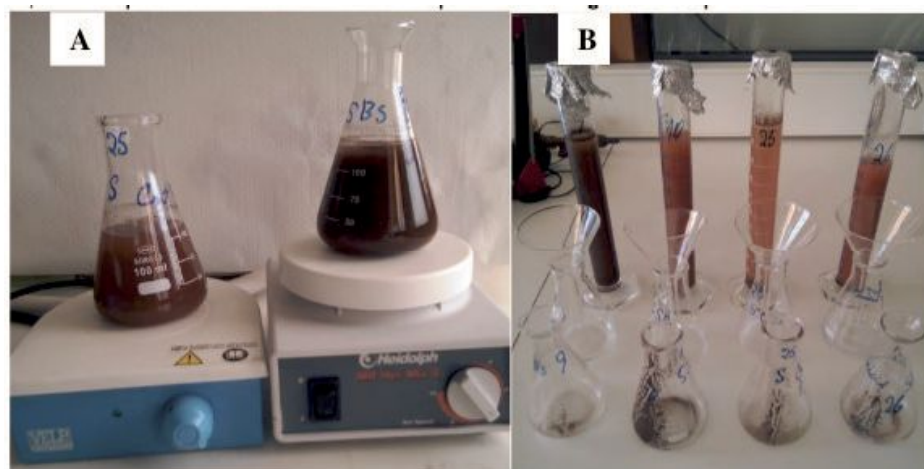


Figura. 3A, 3B. Experimental amostras no aquecedor magnético e proveta em decantação

Fonte: autoria própria

Preparo de soluções meio MBL2x + microalgas – Para a solução MBLx2+algas após o arrefecimento da autoclave, foi adicionado ao frasco *SHOT* a quantidade de inóculo de 250 mL de microalgas necessárias para uma absorvência inicial de 450 nm entre 0,2 ou 0,3. Houve também o preparo da concentração da solução-mãe (Figura 4A) de dicromato de potássio 2 mg/L para ser diluído e utilizado no percentual de 50%/50% com as microalgas como inibidor de crescimento no teste. As manipulações foram feitas em condições estéreis, perto de uma chama (Figura 4B). Utilizando os *Erlenmeyer* esterilizados de 250 mL preparou-se inicialmente o branco (controle) com o total de 5 réplicas de 20 mL, em seguida se repetiu para cada uma das amostras

soluções finais: 50 ml de amostra + 50 ml de MBL2x + microalgas, as quais foram inoculadas por 72:00 h, seguindo as mesmas condições adequadas de assepsia (BLANKLEY, 1973; HAMILTON, 1973; CETESB, op.cit). Foram condicionadas na estufa de incubação com termômetro aparente à 22°C, com as luzes ligadas e controle.



Figuras 4A e 4B – 4A. Preparação das amostras solução-mãe do inibidor dicromato de potássio 2 mg/L; **4B.** Preparo e manipulação das amostras teste em condições estéril.

Autor: autoria própria

Validade do ensaio – Um ensaio é considerado válido quando satisfaz os seguintes critérios de desempenho:

- A biomassa das culturas de controlo deve ter aumentado exponencialmente num fator de pelo menos 16 durante as 72 horas do período de ensaio.
- O coeficiente médio de variação das taxas de crescimento específico nas culturas de controle não deve exceder os 35 %.
- O coeficiente de variação das taxas médias de crescimento não deve exceder 7 % nos ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*.

A avaliação da inibição do crescimento foi realizada por análise diária das amostras em Espectrofotômetro UVVis Evolution 160, Thermo Fisher Scientific, Madison WI 53711 USA, CAT 10100301, SN HDNS091001. C SP 163128.

Foi calculada a taxa de crescimento do controle, com estes valores se calculou a percentual de inibição de crescimento de cada amostra como sendo, gráfico de Inibição (absorvência) *versus* dia, sendo obtido a reta de regressão linear. Para cada replicação de amostras testes foi calculado o percentual de taxa de inibição do crescimento ao fim de 72 h de ensaio com a equação:

Onde:

$$\%I_r = \frac{(\mu_c - \mu_T)}{\mu_c} \times 100 \quad \% \text{inibição crescimento} = \frac{\text{taxa cresc. controle} - \text{taxa cresc. amostra}}{\text{taxa cresc. controle}} \cdot 100$$

- % Ir: percentagem de inibição na taxa de crescimento média específica
- μC : valor médio para taxa de crescimento média específica (μ) grupo controle
- μT : taxa de crescimento média específica para a solução testada.

Foi elaborada uma planilha média de crescimento versus tempo (dias). Se aplicou a equação DESVPAD com o cálculo ($=LN(\dots)$), obtendo assim o percentual da relação exponencial entre a transmissão de luz através de uma substância e a concentração da substância (lei de Beer-Lambert). Foi calculada a média de crescimento entre elas e o desvio padrão (DP %) em percentual. Deste processo matemático foi composto um demonstrativo para avaliar o teste de ecotoxicidade com as microalgas *Pseudokirchneriella subcapitata*. Os quatro primeiros ensaios/tese foram compostos das 4 amostras: sedimento inicial branco, Cristal residual com petróleo, sedimento biorremediado e biopolímero seco, sendo acompanhado por amostra controle.

1º Teste: Amostra Sedimento SEMA. Amostra original, seca, sólida. Para o controlo foram feitas 5 réplicas e 3 para cada uma das amostras num total de 17 Erlenmeyer/amostra a ser analisado (Figura 5A e 5B). Para controle de inibição, Dicromato de Potássio 2mg/L, conforme literatura para validação.



Figura 5A e 5B – Amostras a serem analisadas, 5 réplicas de controlo e 3 para cada uma das amostras da substancia, enumeradas, na câmara estufa, à 22°C, iluminada.

Autor: autoria própria

2º Teste: A amostra SEMA inicial não foi filtrada devidamente, obtendo uma forte coloração, com isso houve um aumento significativo na absorvência inicial. As demais amostras correram normalmente.

3º Teste: Foi utilizada a substancia de referência como controle de inibição, Dicromato de Potássio 2mg/L. Utilizou-se ainda o teste 3 para estudos com 3 (Tabela 2) e 4 dias para se avaliar a capacidade de crescimento das microalgas e sua inibição com o aumento do tempo. O mesmo procedimento foi realizado com o **teste 4**, sendo acompanhado por um período de 4 dias em sua totalidade.

Cont	Erlen inicial 250mL	dia 1 26/jul	450nm		dia 2 27/jul	450nm		dia 3 28/jul			
1	0,142	0,214	0,214	0,214	0,331	0,343	0,341	0,338	0,484	0,490	0,479
2	0,144	0,226	0,223	0,225	0,370	0,363	0,369	0,367	0,537	0,535	0,538
3	0,146	0,211	0,209	0,210	0,335	0,337	0,335	0,336	0,491	0,494	0,495
4		0,219	0,217	0,218	0,341	0,375	0,369	0,362	0,553	0,551	0,555
5		0,218	0,217	0,218	0,364	0,357	0,365	0,362	0,500	0,493	0,492
Amostra 26 - SE.Br - SEMA inicial											
6	0,210	0,266	0,280	0,279	0,387	0,388	0,386		0,525	0,542	0,539
7	0,221	0,268	0,273	0,274	0,412	0,417	0,418		0,585	0,577	0,576
8	0,212	0,272	0,270	0,271	0,425	0,44	0,415		0,590	0,585	0,587
Média	0,214	0,269	0,274	0,275	0,408	0,415	0,406		0,567	0,568	0,567
Amostra 10 - S.SB.P mais Petróleo											
9	0,175	0,245	0,245	0,249	0,369	0,374	0,38		0,522	0,521	0,537
10	0,178	0,244	0,243	0,244	0,369	0,379	0,373		0,521	0,520	0,533
11	0,175	0,241	0,247	0,243	0,378	0,371	0,377		0,535	0,543	0,550
Média	0,176	0,243	0,245	0,245	0,372	0,375	0,377		0,526	0,528	0,540
Amostra 11 - S.CR.P com Petróleo											
12	0,188	0,216	0,221	0,224	0,272	0,285	0,29		0,354	0,367	0,385
13	0,189	0,230	0,220	0,221	0,287	0,291	0,294		0,356	0,377	0,363
14	0,188	0,227	0,223	0,228	0,288	0,285	0,299		0,380	0,383	0,391
Média	0,188	0,224	0,221	0,224	0,282	0,287	0,294		0,363	0,376	0,380
Amostra DP - Dicromato de Potássio											
15	0,139	0,214	0,219	0,218	0,335	0,334	0,341		0,459	0,465	0,465
16	0,142	0,208	0,207	0,207	0,322	0,327	0,325		0,440	0,446	0,451
17	0,141	0,222	0,220	0,221	0,348	0,349	0,352		0,506	0,508	0,504
Média	0,141	0,215	0,215	0,215	0,335	0,337	0,339		0,468	0,473	0,473

Tabela 2. Ecotoxicidade dados crescimento do 3º teste no período de 3 dias

Autor: autoria própria

O mesmo acontece com o pH no sentido de verificar o potencial de acidez quanto a formação de complexos orgânicos, sabendo que devido ter água do mar, solução salina e cristalizada. Foram observados os parâmetros dentre outros foram observados os critérios como temperatura constante, pH, tamponamento das amostras, tempo de

duração, luz e medidas diárias de absorvência.

3 | RESULTADOS

As análises de absorvência foram feitas diariamente durante o período de teste. A absorvência da solução mãe 2 foi multiplicada por mais de 16 entre o primeiro dia e o último dia de incubação. Portanto, novas condições de trabalho permitem o melhor crescimento de microalgas. Com os resultados das 5 réplicas do controlo (Figura 6), foi realizada uma média dos valores de Absorvências e aplicada a fórmula do ensaio, a equação DESVPAD do crescimento exponencial. Com a média da taxa de crescimento do controlo foi calculado para cada teste e suas amostras respectivamente, de 3 e 4 dias em condições iguais para todas.

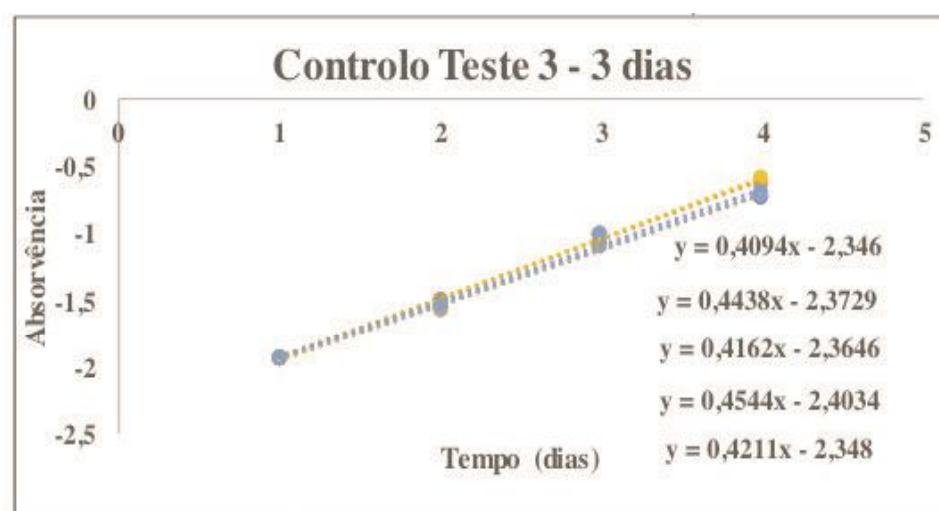


Figura 6 – Gráfico de absorvência do controlo com 5 replicatas do teste 3 com 3 dias.

Fonte: autoria própria

Segundo a Portaria 732-A/96 o valor de CE_{50} da substancia de referência dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) deve situar-se dentro do intervalo de 0,60 a 1.03 mg/L. Isto se justifica nos metais encontrados nas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura, antes e o depois da biorremediação nas amostras de SEMA. Guilherme et al. (2005), em seus estudos afirma, que para muitos microrganismos se faz necessário em determinadas concentrações ou associações metais denominados elementos-traço. Segundo o autor é possível que a presença de espécies de ferro, geralmente encontradas no meio ambiente, permite reações de Fenton por ser este o agente oxidante no sistema (Peralta-Zamora & Tiburtius, 2004). Alguns microrganismos sobrevivem em condições ambientais totalmente adversas, ao extremas (EMBAR et al., 2006). Resultando a metabolização dos compostos orgânicos que podem ser por fermentação, respiração ou cometabolismo (CETESB, 2004).

No Quadro 1 são apresentados os cálculos que resultou para o sedimento biorremediado valor baixo em 12% de inibição durante 3 dias de teste com as microalgas

Pseudokirchneriella subcapitata.

Percentual de Inibição = $0,4290 - 0,3794 / 0,4290 * 100 = 11,56$ ou 12% de inibição								
Designação	dia	Média das Absorvâncias 450 nm			dia	Ln (absorv) 450 nm		
Amostra		1	2	3		1	2	3
	0	0,173	0,173	0,173	0	-1,75446	-1,75446	-1,75446
	1	0,243	0,245	0,245	1	-1,41469	-1,4065	-1,4065
10 - SEMA	2	0,372	0,375	0,377	2	-0,98886	-0,98083	-0,97551
S.Biorremed	3	0,526	0,528	0,540	3	-0,64245	-0,63866	-0,61619

Taxa de crescimento	
Controlo	
Ensaio 1	0,3762
Ensaio 2	0,3773
Ensaio 3	0,3846
Média	0,3794
Desvio padrão	0,004565
DP (%)	1,2
Controlo	0,4290

Quadro 1. Apresenta os cálculos da amostra SEMA – sedimento biorremediado com 12% de inibição com 3 dias de Teste.

Autor: Autoria própria

Como é sabido, as amostras aqui testadas são oriundas de rejeito de mineração de ferro com um percentual após biorremediação para o sedimento SEMA foi de Oxigênio em Wt% 21.49 em etiqueta padrão de SiO₂, acompanhado por Cloro, Sódio, Magnésio e outros. Sendo estes os compostos que estão presentes na amostra. Foi elaborada a Tabela 3 com os dados de absorvência e a Tabela 4 com os cálculos da ecotoxicidade dos testes do sedimento SEMA 1, 2 e 3 por de 3 dias.

Amostra SEMA	1º Teste - 3 dias			2º Teste - 3 dias			3º teste - 3 dias		
	Média Cresci	Taxa d Inibiç	Desvio Padrão	Média Cresci	Taxa Inibiç	Desvio Padrão	Média Cresci	Taxa Inibiç	Desvio Padrão
Controlo	0,5264		3,2	0,5845		4,6	0,4290		4,5
SE Inicial	0,2757	48%	1,3	0,0509	91%	8,9	0,3332	22%	0,5
S Cristal									
Res Petrol	0,2231	58%	0	0,3545	39%	1,3	0,2309	46%	4,1
Sedimen									
Biorrem Pet	0,4196	20%	0,4	0,4620	21%	0,4	0,3794	12%	1,2
Biopolímer	0,4213	20%	0,7						
Dicr Potás 2mg/L							0,4070	5%	0,6

Tabela 3. Dados de Absorvência SEMA dos testes 1, 2 e 3 por período de 3 dias

Autor: Autoria própria

Biorreator	Sigla	Amostra - 1º Teste	Taxa de Inibição	Média Crescimento	Desvio Pad %
		Controle	0%	0,5264	3,2
	SE.Br	26 - SE Inicial - Branco	48%	0,2757	1,3
Protótipo	S.SB.P	10 - SE Sedim Biorrem Petrol	20%	0,4196	0,4
Protótipo	S.BS.2	9 - SE Biopolímero Seco	20%	0,4213	0,7
Protótipo	S.CR.P	11 - SE Cristal Resid Petróleo	58%	0,2231	0
Biorreator	Sigla	Amostra - 2º Teste	Taxa de Inibição	Média Crescimento	Desvio Pad %
		Controlo	0%	0,5845	4,6
	SE.Br	26 - SE Inicial - Branco	60%	0,2314	2,4
Protótipo	S.SB.P	10 - SE Sedim Biorre Petrol	21%	0,462	0,4
Protótipo	S.CR.P	11 - SE Cristal Resid Petrol	39%	0,3545	1,3
Biorreator	Sigla	Amostra - 3º Teste	Taxa de Inibição	Média Crescimento	Desvio Pad %
		Controle	0%	0,429	4,5
	SE.Br	26 - SE Inicial - Branco	22%	0,3332	0,5
Protótipo	S.SB.P	10 - SE Sedim Biorre Petrol	12%	0,3794	1,2
Protótipo	S.CR.P	11 - SE Cristal Resid Petrol	46%	0,2309	4,1

Tabela 4. Ecotoxicidade de produtos da Biorremediação SEMA (sedimento de mineração de Mariana) medida com a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*

Autor: Autoria própria

Isto porque é nesta fase do teste de microalgas que se permite observar um maior crescimento exponencial ao longo do período de 3 dias para o crescimento ou inibição das microalgas.

Na tabela 5 apresenta-se a diminuição da toxicidade do sedimento inicial obtida nos vários ensaios e que foi calculada da seguinte forma:

x100

Biorreator	Ensaio Ecot.	Redução da Ecotoxicidade no sedimento bioremediado	Média	Desvio Padrão
Protótipo	1º Teste	66%		
Protótipo	2º Teste	41 %	51%	11%
Protótipo	3º Teste	45 %		

Tabela 5. Remoção da toxicidade do sedimento inicial (SE Inicial – Branco) versus sedimento bioremediado (SE Sedimento Biorremediado Petróleo)

Fonte: Autoria própria, dados da pesquisa

Verifica-se que houve uma diminuição muito significativa da ecotoxicidade do sedimento contaminado de Mariana após biorremediação, obtendo-se valores relativamente próximos independentemente do tipo de biorreator utilizado para o ensaio (aquário ou protótipo). Por outro lado, verifica-se um aumento da toxicidade (Tabela 6) na fração superficial de sedimento (designada por “Cristal Resid Petrol” devido à sua morfologia em cristais de halita).

Biorreator	Ensaio Ecot.	Remoção da Ecotoxicidade do sedimento	Média	Desvio Padrão
Protótipo	1º Teste	17%		
Protótipo	2º Teste	15%	28	17
Protótipo	3º Teste	52 %		

Tabela 6. Aumento da toxicidade na fração superficial do sedimento biorremediado (SE Cristal ResidPetrol) versus sedimento inicial (SE Inicial – Branco)

Fonte: Autoria própria, dados da pesquisa

Como resultado, houve uma média de crescimento para o controlo de 0,5264 e um desvio padrão de 3,2%, acompanhado por um decréscimo de toxicidade para o sedimento biorremediado e para os biopolímeros em relação do sedimento inicial, no qual este obteve uma taxa de inibição de 48%.

2º Teste: Amostra 26-SE.Br- SEMA inicial . O teste 2, mostra as mesmas analisadas, entretanto a amostra SEMA inicial não foi filtrada devidamente, com isso houve um aumento significativo na absorvência inicial, elevando a taxa de inibição para 91%, e um desvio padrão de 8,9%. As demais foram normalmente.

3º Teste: No teste 3, foi utilizada a substancia de referência como controle de inibição, Dicromato de Potássio 2mg/L. Obtendo-se o percentual de taxa de inibição de 5%, média de crescimento de 0,4070 e um desvio padrão de 0,6%, dentro do limite permitido (EC 761/2009-anexo IV). Quanto ao sedimento biorremediado nos 3 testes/ensaio mostrou-se como esperado (EC 761/2009-anexo IV). Confirma, menor toxicidade em relação ao sedimento inicial, proporção maior que 50%, se torna importante na validação da biorremediação.

4 | DISCUSSÃO

Após todo o tratamento de dados efetuados, para melhor comparação de resultados foi elaborada a Tabela 4 com o conjunto dos resultados de taxa de crescimento, taxa de inibição e desvio padrão calculados através dos valores de absorvência (192 valores) nas 10 análises efetuadas aos produtos da biorremediação do sedimento de mineração recolhido em Mariana. De notar como já referido que a razão para a realização de tantos ensaios “repetidos” prende-se com a heterogeneidade

intrínseca da amostra (apesar de terem sido aplicadas técnicas de homogeneização) e o elevado grau de variabilidade associado aos testes biológicos, assim só com um grau de representatividade elevado de ensaios é possível retirar conclusões sustentadas.

Analisando a Tabela 4 verifica-se que as análises de ecotoxicidade decorreram com uma grande qualidade experimental tendo em conta o desvio padrão obtido para as taxas de crescimento dos replicados que varia entre 0,4 e 4,6% o que são valores baixos e excelentes para este tipo de método biológico.

Observando os resultados de ecotoxicidade da Tabela 4 relativamente ao produto formado durante a biorremediação e denominado “biopolímero” verifica-se que este detém também uma ecotoxicidade muito mais baixa do que o sedimento inicial (66% menos), ou seja não incorporou os inorgânicos nefastos na sua estrutura ou incorporou-os através de compostos complexos que os mantêm aprisionados, não contaminando o ambiente mesmo que lançados no mesmo. Por outro lado, observando a tabela 4 verifica-se um aumento da toxicidade na fração superficial de sedimento designada por “Cristal Resid Petrol” (devido a sua morfologia em que se observam cristais) em dois dos três ensaios realizados. Para a ecotoxicidade do sedimento inicial de Mariana e o sedimento obtido após biorremediação verifica-se que de forma consistente, se obtêm valores mais baixos de inibição de crescimento das microalgas. No ensaio 1 há um abaixamento de inibição de 48% para 20%, no ensaio 2 de 60% para 20% e no ensaio 3 de 22% para 12%. Segundo Guilherme, *et al.*, (2005), este verificou através de seus estudos e concluiu que, em determinadas concentrações ou associações alguns metais pesados, identificados como elementos-traço, podem ser necessários ao metabolismo dos microrganismos.

5 | CONCLUSÕES

A microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* apresentou 51% de redução da ecotoxicidade nas amostras do sedimento biorremediado SEMA na presença dos metais juntos no meio de cultura. Tais resultados atribuem à *Pseudokirchneriella subcapitata* grande potencialidade para sua utilização em processos de ecotoxicologia em biorremediação com metaloide de resíduos de mineração. Entretanto, quanto aos cristais bioativos estes obtiveram um índice alto de toxicidade devido ao seu alto teor de sal de halita, sendo este o principal componente do produto bioativo cristalizado, cristal de halita. Observou-se que os óxidos de ferro contribuíram para a produção das algas e os metalóides contidos nas outras amostras não apresentaram a mesma toxicidade. Assim, a principal iniciativa deste estudo foi desenvolver testes ecotoxicológicos mesmo que em escala de bancada, para validar o residual de derrame de mineração com o propósito de aplicações para direcionar os bioprodutos de acordo com sua afinidade e potencial a ser desenvolvido no mercado industrial.

Tais propostas atendem aos principais requisitos para o desenvolvimento sustentável, promovendo o equilíbrio entre desenvolvimento econômico e preservação

ambiental.

6 | AGRADECIMENTOS

Reconhecemos ao Programa de Recursos Humanos - PRH 49 – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis ANP/MCTI, através de bolsas de pesquisa de doutorado. Agradecemos o apoio financeiro da CAPES (Brasil) através do Programa Doutorado Sanduíche no Exterior PDSE 88881.134321 / 2016-01. Instituto de Física UFBA-LAMUME. ESTSstúbai-IPS.

REFERÊNCIAS

AISLABIE, J.M.; et al.; **Hydrocarbon spills on Antarctic soils: effects and management.** *Environ. Sci. Technol.*, 38:1265-1274, 2004.

ARAUJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. **Indicadores Biológicos de Qualidade do solo.** *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, 2007.

ATLAS, R. M. **Bioremediation.** *Chemical & Engineering News*, EUA, v. 73, p. 32-42, 1995.

BENTO, F.M.; et al.; **Bioremediation of soil contaminated by diesel oil.** *Braz. J. Microbiol.*, 34:65-68, 2003.

CAJARAVILLE, M. P. et al. **The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach.** *Science of the Total Environment*, v. 247, n. 2-3, p. 295-311. 2000.

CALLEGARO, S., MINETTO, D., et al.; **Effects of alginate on stability and ecotoxicity of nano-TiO₂ in artificial seawater.** *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 117, 107–114. 2015.

CETESB: COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Manual de gerenciamento de áreas contaminadas. Capítulo X - **Investigação para Biorremediação**, 2004. 77p.

CHEUNG, C. C. C.; et al.; **Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*.** *Aquatic Toxicology*, v. 52, n. 3-4, p. 189-203. 2001.

CORSI, I., et al.; **Common strategies and technologies for the ecosafety assessment and design of nanomaterials entering the marine environment.** *ACS Nano* 8, 9694–9709. 2014.

CPRM (2015) – Monitoramento Especial da Bacia do Rio Doce., Relatório II, Belo Horizonte, dezembro/2015.

DOMENE, X.; et al.; **Feeding inhibition the soil collembolan *Folsomia* cándida as na endpoint for the estimation oh organic waste ecotoxicity.** *Environmental Toxicology and Chemistry*, New York, v. 26, n. 7, p. 1538-1544, 2007.

EMBAR, K.; FORGACS, C. & SIVAN, A.; **The role of indigenous bacterial and fungal soil populations in the biodegradation of crude oil in a desert soil.** *Biodegradation*, 17:369-377, 2006

FÖRSTER, B.; et al.; **Ring-testing and field-validation of a terrestrial model ecosystem (TME) – an instrument for testing potentially harmful substances: effects of carbendazim on organic**

matter breakdown and soil fauna feeding activity. *Ecotoxicology*, New York, v.13, p. 129-141, 2004.

GARCIA G.M.; **Evolucion temporal del alperujo procedente de almazara.** *Escuela Tecnica Sup. ingenieros agronomos y montes*, p.22-74. 2004.

GRAHAN, L.E.; et al.; **Algae**, Universidade da Califórnia, v. 2, p.616. 2009.

GUILHERME, L.R.G.; et al.; **Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos.** *Tópicos em ciências do solo*, v.4, p.345-390. 2005.

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPÉIA (anexo) **EC 761/2009-anexo IV** (método equivalente ao OECD TG 201).

JUSTINO C.I., et al.; **Toxicity and organic content characterization of olive oil mill wastewater undergoing a sequential treatment with fungi and photo-Fenton oxidation.** *Journal of Hazardous Materials*, 172: 1560-1572. 2009.

KUMAR. A.; et al.; **Review on Bioremediation of Polluted Environment: A Management Tool.** *International Journal of Environmental Sciences*. 1: No 6. 2011.

LIBRALATO, G.; **The case of Artemia spp. in nanoecotoxicology.** *Mar. Environ. Res.* 101, 38–43. 2014.

LOBBAN, C. S.; HARRISON, P.J. e DUCAN, M. J.; **The physiological ecology of seaweeds.** UK: Cambridge University Press; p. 123-131.1985.

MARÍN, J.A.; et al.; **Bioremediation by composting of heavy oil refinery sludge in semiarid conditions.** *Biodegradation*, 17:251-261, 2006.

MILLER, R.J., et al.; **Impacts of metal oxide nanoparticles on marine phytoplankton.** *Environmental science technology* 44, 7329–34. 2010.

MINETTO, D.; et al.; **Ecotoxicity of engineered TiO₂ nanoparticles to saltwater organisms: An overview.** *Environment International*, 66, 18–27. 2014.

MORILLO, J.; USERO, J.; GRACIA, I.; **Biomonitoring of trace metals in a mine-polluted estuarine system (Spain).** *Chemosphere*, v. 58, n. 10, p. 1421-1430. 2005.

NICHOLS, H.; **Handbook of Phycological Methods.** Ed. J. R. STEIN. Cambridge University Press. 1973.

NIYOGI, S. et al.; **Antioxidant enzymes in brackishwater oyster, *Saccostrea cucullata* as potential biomarkers of polyaromatic hydrocarbon pollution in Hooghly Estuary (India): seasonality and its consequences.** *Science of the Total Environment*, v. 281, n. 1-3, p. 237-246. 2001.

OECD, **Guideline for Testing of Chemicals.** No. 201, *Freshwater Algae and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test*, OECD, Paris, 2011.

PERALTA-ZAMORA, P.; TIBURTIUS, E.R.L.; **Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados.** *Quím. Nova*, 27:441-446, 2004.

QUINTELLA, C. M.; GONÇALVES, O.; **Processo de obtenção de produto biodegradável para aplicação na remediação de solos, águas e ambientes impactados e método de funcionamento.** PI 1004444-2 A2. 2010.

RAHMAN, K.S.M.; et al.; **Bioremediation of gasoline contaminated soil by a bacterial consortium amended with poultry litter, coir pith and rhamnolipid biosurfactant.** Bioresour. Technol., 81:25-32, 2002.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O.; **Produção de Plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para a alimentação de Organismos Aquáticos.** São Carlos, Editora Rima, 106 p. 2003.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; et al.; **Cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (reisch) Korsikov (Chlorophyta) em laboratório utilizando meio CHU12 e de macrófita com NPK.** Boletim do Instituto de Pesca, v.35. n.1, p.111-118. 2009.

QUINTELLA, C. M.; GONÇALVES, O.; **Processo microbiológico para captura de voláteis e produção de biopolímero proteico.** BR PI 011 05 932-0. 2011.

QUINTELLA, C.M.; GONÇALVES, O.; TRIGUIS, J. A.; **Processo para obtenção de biossensores e biossensores.** BR PI 11 05 934-6. 2011.

QUINTELLA, C. M., GONÇALVES, O.; **Estação de tratamento subterrânea para derrames de petróleo ou esgoto com aplicação de Mistura Microbiológica e método de funcionamento.** BR PI 10 033531 0. 2012.