



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

**IMOBILIZAÇÃO DE MICROALGAS *CHLORELLA SP* EM MATRIZ DE ALGINATO
DE CÁLCIO PARA TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS**

TEREZA KAROLENE NASCIMENTO OLIVEIRA

**Campina Grande -PB
Fevereiro/2014**

TEREZA KAROLENE NASCIMENTO OLIVEIRA

**IMOBILIZAÇÃO DE MICROALGAS *CHLORELLA SP* EM MATRIZ DE ALGINATO
DE CÁLCIO PARA TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Licenciatura Plena e Bacharelado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Valderi Duarte Leite

CAMPINA GRANDE – PB

2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

O48i Oliveira, Tereza Karolene Nascimento.

Imobilização de microalgas *Chlorella* sp em matriz de alginato de Cálcio para tratamento de águas residuais [manuscrito] / Tereza Karolene Nascimento Oliveira. - 2014.

35 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.

"Orientação: Prof. Dr. Valderi Duarte Leite, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental".

1. *Chlorella*. 2. Alginato de cálcio. 3. Tratamento de águas residuais. I. Título.

21. ed. CDD 628.4

TEREZA KAROLENE NASCIMENTO OLIVEIRA

IMOBILIZAÇÃO DE MICROALGAS *CHLORELLA SP* EM MATRIZ DE ALGINATO
DE CÁLCIO PARA TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS

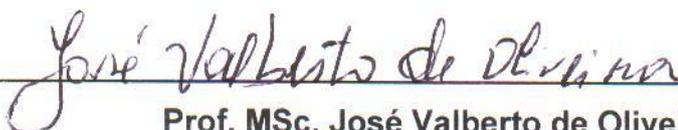
Aprovado em 26/02/2014

BANCA EXAMINADORA



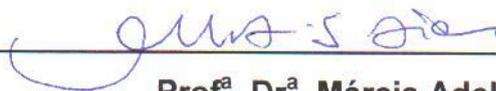
Dr. Valderi Duarte Leite / UEPB

Orientador



Prof. MSc. José Valberto de Oliveira / UEPB

Examinador



Prof.ª Dr.ª Márcia Adelino/ UEPB

Examinadora

Dedico este trabalho de conclusão de curso, a minha querida família, que sempre acreditou em mim, incentivando-me a prosseguir nos meus estudos e me ensinando a nunca desistir dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Bom Deus, por ter permitido concluir mais esta etapa da minha vida;

Ao meu querido e amado esposo que me incentivou e sem ele não teria realizado este trabalho;

Às minhas filhas, por toda ajuda e dedicação;

Ao meu bebê por me mostrar, involuntariamente, que devo seguir em frente e nunca desistir dos meus ideais;

À minha amiga Jeane pelo encorajamento e exemplo;

A todos da EXTRABES que, de uma forma ou de outra tiveram grandes participações;

Enfim, a todos da minha família por estarmos sempre juntos em todos os momentos.

RESUMO

Os processos convencionais de tratamento de águas residuais geram subprodutos químicos perigosos e/ou carcinogênicos, os organoclorados. A tecnologia da imobilização de microalgas (*Chlorella*.) em matrizes de alginato de cálcio aumenta a longevidade fotossintética, viabilidade, durabilidade e atividade biocatalizadora celular. O presente estudo tem por objetivo questionar como é feito o processo de imobilização de microalgas *Chlorella* em matriz de alginato de cálcio para serem utilizadas na desinfecção de águas residuais. A metodologia partiu de uma pesquisa bibliográfica mostrando a necessidade da desinfecção de efluentes poluídos e os tipos de processos de limpeza de águas residuais, em especial o uso de microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio. Num segundo momento, uma pesquisa de campo, buscando demonstrar o tempo ideal para o cultivo das microalgas *Chlorella sp* imobilizada em matriz de alginato de cálcio e eficácia para a remoção biológica. Posteriormente, foi realizado o monitoramento de biorreatores instalados verticalmente, com leito preenchido com esferas microalgas *Chlorella* em matriz de alginato de cálcio. Os resultados da pesquisa mostraram que a adaptação das microalgas ao meio basal foi eficaz, com o crescimento máximo da densidade celular no sétimo dia, logo após dando início a fase de declínio. A *Chlorella sp* foi imobilizada a partir do quinto e sexto dias de cultivo. As esferas apresentaram aproximadamente um diâmetro de 4mm, massa de 0,371g e um volume de 33,51mm³. Houve o monitoramento dos bioreatores com 1L de volume com algas imobilizadas ao longo de 5 horas, ocorrendo o aumento significativo do pH de 6,0 em T₀ à 8,5 em T₅. O aumento do pH do meio em contato com as esferas de microalgas imobilizadas em meio de alginato de cálcio, demonstra a intensa atividade fotossintética das mesmas.

Palavras-chaves: imobilização; microalgas; alginato de cálcio; águas residuais.

ABSTRACT

Conventional treatment processes generate hazardous waste water and / or carcinogenic chemical by-products organochlorines. The technology of immobilization of microalgae (*Chlorella*) in calcium alginate matrix increases the photosynthetic longevity, sustainability, durability and biocatalizadora cellular activity. This study aims to question how is the process of immobilization of microalgae *Chlorella* in calcium alginate matrix for use in the disinfection of wastewater. The methodology was based on a literature review showing the need for disinfection of polluted effluents and types of cleaning processes of wastewater, in particular the use of microalgae immobilized in calcium alginate matrix. Secondly, a field research, seeking to demonstrate the ideal for the cultivation of microalgae immobilized in calcium alginate and removal efficiency for organic matrix *Chlorella* sp time. Thereafter, the monitoring bioreactors installed vertically with bed filled with balls microalgae *Chlorella* alginate matrix cálcio. The search results was performed showed that the adaptation of microalgae to the basal medium was effective , with the greatest increase in cell density in the seventh day, shortly after starting the decline phase . *Chlorella* sp was immobilized from the fifth and sixth days of culture . The spheres had a diameter of approximately 4 mm, weight of 0,371 g and a volume of 33.51 mm³. There was the monitoring of bioreactors with 1L volume with immobilized algae over 5 hours, occurring a significant increase in pH from 6.0 to 8.5 at T₀ in T₅.O increasing pH of the medium in contact with the spheres of microalgae means immobilized in calcium alginate demonstrates the intense photosynthetic activity thereof.

Keywords: Immobilization. Microalgae. Calcium alginate. Wastewater.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Formação do gel de alginato de cálcio por engaiolamento	22
FIGURA 2 – Modelo “Egg-Box”, para a formação do gel de alginato com íons de cálcio	22
FIGURA 3 – Meio de Cultivo autotrófico estacionário e culturas 48 horas após inoculação...	24
FIGURA 4 – Bioreatores.....	25
FIGURA 5 – Esquema do isolamento, cultivo e imobilização da <i>Chlorellasp</i>	26
FIGURA 6 – Curva de crescimento da <i>Chlorellasp.</i> ao longo de 14 dias	27
FIGURA 7 – Esferas com algas imobilizadas	28
FIGURA 8 – Valores médios do pH no biorreator durante cinco horas de reação, referente aos meses de abril a junho de 2011.....	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	09
2	OBJETIVOS	10
2.1	Objetivo Geral	10
2.2	Objetivos Específicos	10
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	11
3.1	ÁGUA RESIDUAIS.....	11
3.2	TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS	12
3.2.1	Processo Físico de Tratamento de Águas Residuais	14
3.2.2	Processo Químico de Tratamento de Águas Residuais	14
3.2.3	Processo Biológico de Tratamento de Águas Residuais	15
3.3	BIORREMEDIAÇÃO	17
3.4	IMOBILIZAÇÃO CELULAR	18
3.5	IMOBILIZAÇÃO DE MICROALGAS PARA O TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS	19
3.5.1	Microalgas <i>Chlorella</i>	20
3.5.2	Alginato de Cálcio	21
4	METODOLOGIA	23
4.1	LOCALIZAÇÃO DO SISTEMA EXPERIMENTAL.....	23
4.2	ISOLAMENTO DA <i>CHLORELLA SP.</i>	23
4.3	MANUTENÇÃO DA CULTURA.....	23
4.4	IMOBILIZAÇÃO DA <i>CHLORELLA SP.</i>	24
4.5	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DAS ESFERAS.....	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

Durante muito tempo os métodos de tratamento de águas residuais eram realizados através de técnicas de autodepuração em rios, lagos e ribeiros com um tratamento apropriado de dispersão dos microrganismos poluentes. No entanto, tal processo demandava um significativo tempo de espera até que os recursos hídricos se tornassem reutilizáveis, apesar de ter uma eficácia satisfatória.

Com o passar dos anos, outras técnicas surgiram, as quais promovem a limpeza da água utilizando componentes químicos que interagem de forma agressiva no processo de desinfecção, evitando possíveis problemas à saúde.

De acordo com Vidotti e Rollemberg (2004), diante do crescimento populacional nas áreas urbanas surgiram dois fatores que demandam uma atenção especial dos poderes públicos, que é a grande quantidade de resíduos jogados na água, em contrapartida à grande necessidade de um consumo cada vez maior do “líquido da vida”.

Sendo assim, é importante realizar um estudo para que sejam, de maneira prática, analisadas as tecnologias para tratar eficientemente as águas Residuais de maneira que possam ser utilizados meios naturais, promovendo ao mesmo tempo a preservação do meio ambiente, mantendo o equilíbrio de nosso planeta.

Desta forma, o presente estudo busca questionar sobre o processo de imobilização de microalgas *Chlorella sp* em matriz de alginato de cálcio para serem utilizadas no tratamento de águas residuais.

Diante disso, Silva (2007) assegura que, entre as práticas desenvolvidas visando à remoção da poluição das águas, a imobilização celular se apresenta como uma alternativa que vem dando resultados satisfatórios. Entre essas microalgas, a *Chlorella sp* é a que mais se adequa a esse tipo de tratamento de águas residuais.

Neste sentido, Pearson (2008) afirma ainda que os vários trabalhos em escala laboratorial indicam que a imobilização de microalgas em alginato de cálcio, submetidas ao fluxo contínuo de efluentes contaminados é bastante eficaz na remoção de coliformes fecais, nitrogênios, metais, biocidas, fósforo entre outros elementos poluidores da água.

A imobilização de microalgas em matriz de alginato de cálcio e sua aplicação é uma tecnologia que tem a finalidade de remover vários materiais poluidores em águas residuais. Tal processo acontece porque proporciona o aumento da longevidade fotossintética das algas, a viabilidade, durabilidade, atividade biocatalizadora celular através de técnicas simples e de baixo custo (PEARSON, 2008). Além de prevenir que a biomassa seja levada para fora dos biorreatores oferecendo um grande avanço na flexibilidade operacional e na fácil separação das algas dos efluentes tratados (SILVA, 2011).

Desta forma, é importante realizar experimentos buscando aprimorar e desenvolver técnicas que envolvam a imobilização de microalgas em ambiente poluído, associado ao uso de novos materiais como a matriz de alginato de cálcio, permitindo assim comprovar a eficácia do processo de tratamento de águas residuais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o processo de imobilização de microalgas *Chrorella sp* em matriz de alginato de cálcio, para serem utilizadas em processos de tratamento de águas residuais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o tempo de cultivo e crescimento das microalgas em MMB (Meio Basal Bold's);
- Medir o diâmetro médio, a massa e o volume das esferas produzidas após a imobilização;
- Analisar a variação do pH (potencial Hidrogeniônico) do efluente submetido ao tratamento com as esferas de microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ÁGUASRESIDUAIS

As águas residuais são aquelas contaminadas por esgotos domésticos e industriais gerando alterações dos recursos hídricos, tornando-se veículos de transmissão de doenças infecciosas causadas por microrganismos patogênicos ou doenças associadas com substâncias tóxicas que podem ser disseminadas (SILVA, 2011)

De acordo com Diniz et al (2008), os compostos encontrados nas águas residuais são substâncias consideradas perigosas não só para o ser humano, como também para o meio ambiente dependendo do elevado grau de toxicidade com um potencial de persistência e bioacumulação.

Com relação às águas residuais domésticas, são constituídas por matéria orgânica biodegradável, microrganismos como bactérias, vírus, helmintos, nutrientes (nitrogênio e fósforo), óleos e graxas, detergentes e metais (BENETTI; BIDONE, 1995 apud PEREIRA, 2007).

No caso das águas residuais industriais, caracterizam-se pela variação com relação à composição, bem como com relação à vazão, de acordo com seus processos de produção. De acordo com Pereira (2007), baseiam-se em três pontos específicos:

- a) *Águas residuais sanitárias*: são aquelas descartadas de banheiros e cozinhas industriais e são semelhantes às águas geradas pelos esgotos domésticos;
- b) *Águas residuais de refrigeração*: são aquelas utilizadas no resfriamento de máquinas e equipamentos. Essas águas produzem dois impactos ambientais: a poluição térmica gerada por efluentes de usinas termoelétricas, por exemplo, e a poluição industrial através das altas concentrações de cromo hexavalente;
- c) *Águas residuais de processos*: são aquelas resultantes do contato direto com a matéria-prima do produto manufaturado pela indústria. Vale ressaltar que as águas de processos são próprias da indústria onde o produto está sendo processado como, por exemplo: Indústria de fertilizantes, refinarias, curtumes, indústria de celulose, indústria siderúrgica e metalúrgica, indústria pesqueira, indústria de navegação e indústrias responsáveis pela queima de combustíveis fósseis, entre outras.

Além disso, são também consideradas residuais as águas pluviais, aquelas derivadas de irrigação de jardim e espaços verdes, de lavagem de ruas, pátios, parques e estacionamento, normalmente recolhidas por sarjetas, sumidouros e ralos.

De acordo com Nascimento (2011), as águas em seu estado natural têm sua qualidade afetada nas diversas atividades do homem, quais sejam domésticas, comerciais ou industriais, gerando resíduos poluentes típicos de cada determinada área que implica direta ou indiretamente na qualidade de vida principalmente dos seres humanos.

A água residual pode ser imprópria para a vida, causando, por exemplo, a mortandade de peixes. Também pode haver liberação de compostos voláteis, que provocam mau odor e sabor acentuado [...] A hepatite infecciosa, o cólera, a disenteria e a febre tifóide são exemplos de doenças de veiculação hídrica, ou seja, um problema de saúde pública (GUIMARÃES; ABDUL NOUR, 2001, p. 01).

Desta forma, segundo os autores, o lançamento de efluentes em determinadas áreas hídricas de maneira pontual ou difusa causam mudanças nas características químicas, físicas e biológicas desse local havendo alterações que podem causar a disseminação de doenças, bem como contaminação do ecossistema circunvizinho (GUIMARÃES; ABDUL NOUR, 2001).

Portanto, faz-se necessário o tratamento das águas residuais utilizando as diversas técnicas disponibilizadas, buscando não só evitar a transmissão de doenças ao homem, como também o reaproveitamento dos mananciais poluídos. De acordo com Araújo (2011), a busca por uma alternativa para diminuir dos conflitos socioeconômicos relacionados à escassez dos recursos hídricos no mundo tem como principal alvo o tratamento de águas residuais para posterior reuso.

3.2 TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS

O tratamento de águas residuais atualmente é de extrema importância para a saúde pública e para o meio ambiente. Sendo assim, cabe aos poderes públicos por em prática programas e projetos que incentivem a reutilização da água através de diversas técnicas que possam retirar da água os componentes poluidores e contaminantes causadores de diversas doenças infecciosas (SILVA, 2007).

Atualmente, são utilizadas estações de tratamento para realizar a desinfecção de águas residuais nos diversos estágios de contaminação através de um conjunto de ações que envolvem basicamente a drenagem e a coleta do conteúdo a ser tratado.

As Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR) utilizam tais processos para o tratamento: o físico, o químico e o biológico. Além da combinação físico-química, dependendo das características residuais encontradas na água e da área existente para a realização do tratamento e do nível de desinfecção a ser atingido (GUIMARÃES; ABDUL NOUR, 2001).

Desta forma, de acordo com Cruz (2009), o serviço público sanitário deve ter um completo domínio das ações a serem desenvolvidas utilizando os processos disponíveis, levando em conta também o grau de poluição hídrica dos mananciais para que sejam implantados os tratamentos em níveis primário, secundário e terciário, que são identificados abaixo pelo autor.

- Tratamento Primário: neste nível o método é basicamente físico-químico, pois a intenção é a retirada de resíduos sólidos da água após a realização do processo de sedimentação, ou ainda, para uma melhor ação de limpeza os resíduos são separados da água utilizando agentes químicos para a diluição do material sólido.
- Tratamento Secundário: é feito, utilizando o processo biológico e com características semelhantes, através dos sistemas aeróbios intensivos como microrganismos suspensos, biomassa fixa e/ou sistemas aquáticos por biomassa suspensa.
- Tratamento Terciário: são realizados através de processos físico-químicos para a remoção dos resíduos mais resistentes, como os compostos de azoto e de fósforo. Trata-se de uma desinfecção que busca remover microrganismos que produzem doenças, através da aplicação de radiações ultravioleta (UV), além de cloragem adicional, utilizando o hipoclorito de cálcio.

Com relação aos processos de desinfecção das águas residuais, tanto o físico, o químico e o biológico são utilizados de acordo com o nível de tratamento a ser realizado ou de acordo com a necessidade de pureza desejada. De acordo com Bassoi (2009), os processos de tratamento dos resíduos da água são utilizados conforme a alteração poluidora da água.

3.2.1 Processo Físico de Tratamento de Águas Residuais

É utilizado basicamente no tratamento em nível primário e busca a remoção de resíduos sólidos em suspensão. No processo físico é aplicado um tratamento de natureza física, tais como: gradeamento, peneiramento, sedimentação, coagulação, floculação, decantação, filtração etc. (NUNES, 2010).

- *Gradeamento*: trata-se de barrar os resíduos sólidos grosseiros em suspensão a partir da colocação de barras paralelas com espaços iguais;
- *Peneiramento*: é o método que retém resíduos sólidos grosseiros através de um sistema de peneiras estáticas ou rotativas.
- *Sedimentação*: técnica de separação de partículas que alteram a forma, o peso e o volume do resíduo a ser retirado.
- *Coagulação*: acontece quando as partículas que originariamente separadas se aglutinam através da ação de coagulantes, como sais de ferro III e alumínio, além de polieletrólitos.
- *Floculação*: é baseado na formação de flocos durante o processo de coagulação de partículas, através do aumento de volume e densidade.
- *Decantação*: é feita através da separação da água e dos resíduos sólidos formando flocos originando as lamas devido à ação da gravidade.
- *filtração*: neste sistema são utilizado filtros para a remoção dos resíduos através de areia que reduz o número de bactérias e as impurezas em suspensão na água. De forma que os filtros sejam periodicamente lavados em água corrente para a retirada dos resíduos ali instalados.

Vale ressaltar que existem outros mecanismos para a realização do processo físico no tratamento de águas residuais como a osmose reversa e o resfriamento. Além disso, o processo físico de tratamento das águas residuais pode ser utilizado em conjunto com os processos químico e biológico (NUNES, 2010).

3.2.2 Processo Químico de Tratamento de Águas Residuais

O processo químico para o tratamento das águas residuais é aquele que é utilizado produtos químicos com a função de aumentar eficientemente a remoção de elementos e substâncias, modificando suas estruturas e características químicas (BASSOI, 2009). Desta forma, os principais processos químicos utilizados são:

- **Coagulação-Floculação:** processo utilizado quando existe uma elevada percentagem da DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), o aumento da taxa de retirada de resíduos é realizada em virtude da coagulação-floculação dos colóides, através de afluência dos resíduos em suspensão na água (SOARES, 2007).
- **Precipitação química:** acontece quando são inseridos produtos na água residual que, em contato com o enxofre do gás sulfídrico, forma um precipitado estável que ao ser misturado, reduz ou elimina a concentração de gás sulfídrico, sendo eliminado pela atmosfera (ALVES, et al, 2004).
- **Oxidação:** processo no qual há um aumento da perda de elétrons de uma substância, com o objetivo de transformar elementos químicos impróprios ao convívio aquático em elementos que auxiliem na melhora e na qualidade da água (VON SPERLING, 2002).
- **Cloração:** processo também conhecido como desinfecção, é realizado através da dosagem de cloro aplicado por dosagens específicas na água. A cloração também pode ser efetuada com outras substâncias químicas (MEYER, 2004).

Vale ressaltar que existem outros tipos de processos químicos na remoção dos resíduos da água e são aplicados conforme a origem do agente poluidor.

3.2.3 Processo Biológico de Tratamento de Águas Residuais

Os principais processos biológicos para o tratamento de águas residuais são baseados na utilização de elementos da natureza, tendo como objetivo principal a estabilização dos componentes hídricos de forma natural para controlar e otimizar a matéria orgânica, entre outras substâncias encontradas no meio aquoso, podendo assim possibilitar a reutilização da água e minimizar os problemas ambientais causados pela poluição (GUIMARÃES; ABDUL NOUR, 2001).

Vale salientar que o tratamento de águas residuais através dos processos biológicos se caracteriza pela ação de microrganismos aeróbicos ou anaeróbicos, geralmente em águas residuais em nível terciário. No que diz respeito à ação aeróbia, os microrganismos agem através de métodos oxidativos, degradando as substâncias orgânicas, sendo reconhecidas como "alimento" e fonte de energia para os microrganismos. Já na ação anaeróbia é realizada através de bactérias anaeróbias decompondo as substâncias orgânicas existentes na água (BARCELLOS; CARVALHO, 2006).

Desta forma, de acordo com Basoi (2009), os processos biológicos mais utilizados são: Lodos ativados e suas variações; Filtro biológico anaeróbico ou aeróbico; Lagoas aeradas; Lagoas de estabilização facultativas e anaeróbias; Digestores anaeróbios de fluxo ascendente.

- **Lodos ativados e suas variações:** sistema em que há o crescimento e floculação contínua da massa biológica, a qual é colocada na presença de oxigênio junto à matéria orgânica residual.
- **Filtro biológico anaeróbico ou aeróbico:** método aplicado nos tanques com água residuais sendo pedras ou elementos plásticos utilizadas no desenvolvimento de uma camada superficial de microrganismos aeróbios. A água residual, ao entrar em contato com o filme biológico, tem sua matéria orgânica envolvida pela massa biológica, realizando a estabilização por ação de microrganismos.
- **Lagoas Aeradas:** trata-se de um método mecanizado e aeróbico, no qual o oxigênio é provido por equipamentos mecânicos denominados “aeradores”. Além disso, o oxigênio pode ainda ser fornecido por ar comprimido utilizando para isso qualquer distribuidor submerso.
- **Lagoas de estabilização facultativas e anaeróbias:** também conhecido como sistema australiano, constitui em um método natural de tratamento de águas residuais, com o objetivo de barrar o oxigênio existente na camada superficial para que este não seja transmitido às camadas mais profundas, garantindo assim, as condições de anaerobiose que lança uma considerável quantidade de água residual por unidade de volume da lagoa.
- **Digestores anaeróbios de fluxo ascendente:** Os digestores anaeróbios fazem parte dos equipamentos que são utilizados processos biológicos no tratamento de águas residuais. Trata-se de reatores que estabilizam resíduos concentrados, principalmente os lodos existentes nos esgotos. Com relação aos filtros anaeróbios são tanques onde são colocados materiais como pedra, plástico, etc., depositados, aos quais se cria uma camada de microrganismos nos espaços que absorvem formando um lodo contendo muitas impurezas retiradas da água.

De acordo ainda com Basoi (2009), há outros métodos de tratamento biológicos utilizados para a desinfecção das águas residuais. Atualmente, a técnica de biorremediação, por exemplo, surge como uma forma alternativa bastante eficaz no tratamento de águas residuais em nível terciário.

3.3 BIORREMEDIAÇÃO

De acordo com Silva (2007), a biorremediação consiste numa técnica que, através do uso de microrganismos, promove a degradação de resíduos da água, diminuindo ou eliminando contaminantes ambientais. Este processo tem avançado muito nas últimas décadas, principalmente quando se refere ao meio ambiente e o tratamento de águas Residuais (SILVA, 2007).

Trata-se de um processo que tem por finalidade desintoxicar as águas poluídas, o solo ou outros ambientes contaminados utilizando microrganismos (fungos, bactérias, algas, etc.) e enzimas [...] baseia-se, pois, na degradação microbiana e em reações químicas combinadas com processos de engenharia, de modo que os contaminantes sejam transformados, não oferecendo riscos ao ambiente e às populações que habitam na circunvizinhança do contaminante (SILVA, 2007, p. 21).

A biorremediação está sendo vista como um método bastante eficaz na reutilização das águas residuais, bem como dos solos contaminados, através da ação de microrganismos, tendo a capacidade de eliminar diversos poluentes existentes tanto no meio térreo como no aquático.

Sendo assim, a tecnologia de degradação dos resíduos gerados na água se baseia nos processos biológicos através das reações químicas realizadas pelos microrganismos. No caso da biorremediação, as estratégias utilizadas incluem o método “*in situ*” e o “*ex situ*” sendo com agentes estimulantes, como nutrientes, oxigênio e biossurfactantes (bioestimulação) ou com a inoculação de grupos microbianos enriquecidos (bioaumento) (PEREIRA; FREITAS, 2012).

Segundo Mariano (2006), a biorremediação “*in situ*” é realizada no próprio local, sem que seja necessária a retirada do material contaminado do manancial, enquanto que a biorremediação “*ex situ*” é realizada fora do local contaminado, ou seja, as águas infectadas são retiradas para outro local para que sejam desinfetadas, evitando assim uma possível contaminação após a descontaminação.

Sendo assim, a biorremediação, tendo os microrganismos como agentes biológicos, trata-se de uma ferramenta de remediação nos ambientes contaminados considerada a que mais se adequa ecologicamente no tratamento de águas residuais de nível terciário, principalmente daquelas em que a contaminação através de moléculas orgânicas é de difícil biodegradação (GAYLARD; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

3.4 IMOBILIZAÇÃO CELULAR

A imobilização celular é o processo pelo qual, por meios naturais ou artificiais, as células são impedidas de se movimentarem induzindo mudanças no crescimento, na fisiologia e na atividade metabólica de bactérias, leveduras e fungos. Com relação ao método natural, a imobilização celular acontece através de interações eletrostáticas, enquanto no método artificial, ocorre devido à ligações covalentes de agentes como o glutaraldeído ou carbodiimida (COVIZZI et al., 2007).

Além dos meios naturais e artificiais, a imobilização celular pode ser realizada de diversos tipos, dependendo da atuação das células ou enzimas. Rodrigues (2010) cita os seguintes tipos de imobilização celular:

Adsorção, ligação eletrostática e covalente, engaiolamento em matriz porosa, floculação natural e artificial, microencapsulação, microencapsulação interfacial e contenção entre micromembranas. A encapsulação, ou mais apropriado, imobilização em partículas, é um processo pelo qual células são retidas dentro de esferas poliméricas semipermeáveis, sendo as células uniformemente distribuídas dentro delas (RODRIGUES, 2010, p. 12).

Vale salientar que, de acordo com Canilha et al. (2006), a técnica de imobilização de células realizada através da retenção de células e enzimas em local insolúvel, obrigando as mesmas a permanecerem em uma região onde há a ação do bioreator. Tal processo é apontado como um dos mais eficazes na redução dos resíduos biológicos da água devido a esse bioprocessamento ser considerado, teoricamente, como biocatalisador no tratamento de desinfecção das águas residuais.

No que diz respeito à imobilização de algas, tal processo é proposto com o intuito de tratamento das águas residuais, tanto para reduzir o problema da colheita de algas em número suficiente, assim como estabilizar o volume de biomassa de algas para outros processos (SILVA, 2007).

Além disso, segundo Silva (2007), a utilização da técnica de algas imobilizadas para tratar de águas residuais possibilita uma maior ação do bioreator, se comparado com o sistema de suspensão de algas, devido à aceleração na densidade e a inserção celular, sem que haja necessariamente lavagens de células, permitindo assim uma estabilização maior no processo.

3.5 IMOBILIZAÇÃO DE MICROALGAS PARA O TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS

De acordo com Silva (2006), as microalgas são microrganismos que possuem clorofila e outros pigmentos fotossintéticos, importantes para a sua sobrevivência. São considerados como os seres vivos mais antigos do planeta. Uma das utilidades das microalgas é realizar a desinfecção de águas residuais através do processo de imobilização, além de retirar metais pesados e nutrientes como nitrogênio e fósforo.

A imobilização de microalgas no tratamento de águas residuais busca minimizar os estragos causados pela poluição biológica dos esgotos urbanos. Consiste na utilização desses microrganismos que se reproduzem naturalmente ou artificialmente nesses locais, digerindo as matérias orgânicas e inorgânicas presentes, melhorando assim a qualidade das águas através de um processo eficaz e de baixo custo (MARCON, 2005).

Conforme afirma Megharaj et al. (1992 apud SILVA, 2011) a tecnologia de imobilização de microalgas tem como benefícios o aumento do período fotossintético, a possibilidade de ativar a função biocatalisadora das células, oferece baixos custos na aplicação do processo, não deixa que a biomassa seja desviada dos biorreatores, além de oferecer um avanço considerável e facilidade operacional na separação das microalgas encontradas nas águas residuais tratadas.

De acordo com Oswald (1988 apud ARAÚJO, 2011) as microalgas servem para o tratamento de águas residuais, realizando dupla função, por um lado, aumenta a temperatura da água convertendo a luz em calor, causando uma alta mortalidade de bactérias, principalmente as patogênicas e, por outro lado, aumenta também o pH fazendo com que haja uma maior atividade fotossintética, o que leva também a uma grande redução dessas bactérias, tendo como resultado a desinfecção da água.

Além disso, a atividade das microalgas imobilizadas no ambiente contaminado, segundo Munoz e Guieysse (2006 apud SILVA, 2011, p. 32):

Favorecem a remoção de nutrientes, contaminantes orgânicos, metais pesados e microrganismos patogênicos das águas residuais domésticas, e que o uso de sistemas de biomassa imobilizada não apresentam as dificuldades da separação das algas do efluente final dos reatores.

Diante do exposto, é importante esclarecer que a imobilização de microalgas para o tratamento de águas residuais depende de vários fatores, como a espécie das algas utilizadas, a matriz a qual é imobilizada, a condição em que se encontra o

grupo de células com relação às esferas da matriz, bem como a morfologia das esferas, aeração, tempo de retenção, entre outros aspectos (SILVA, 2011).

3.5.1 Microalgas *Chlorella*

As *Chlorellas* são microalgas que pertencem à classe chlorofíceas, família Chlorelaceae, ordem Chlorococcales. São compostas por microalgas verdes, unicelulares, clorofiladas com presença de fotossíntese. Constituem as primeiras algas de cultura pura que foram isoladas, de acordo com estudo realizado pelo microbiólogo e botânico holandês Martinus Willem Beijerinck, nos anos de 1890 (SILVA, 2011).

Segundo Lourenço (2006), as microalgas são bastante usadas em tratamento de águas residuais, atuando diretamente na biorremediação, por apresentar elevado crescimento e ser tolerante a várias condições de cultivo. No caso do gênero *Chlorella sp*, destaca-se como um microrganismo que demanda uma grande quantidade de elementos e nutrientes como fósforo e nitrogênio que auxiliam no crescimento do cultivo, em qualquer ambiente aquático.

Sendo assim, de acordo com Silva (2011, p. 31), as microalgas *Chlorella sp* são “mais comuns e efetivas na imobilização para a remoção de coliformes, nutrientes e metais, sendo também, tolerantes a amplas variações de pH e concentração de sais encontrados em ambiente aquático” (SILVA, 2011, p. 31).

Removem os nutrientes (N e P) através de seu metabolismo e crescimento celular e limitam a proliferação de coliformes termotolerantes e bactérias patogênicas, pelo aumento da concentração de oxigênio dissolvido através da fotossíntese, o qual é necessário à fisiologia das bactérias aeróbias heterotróficas, consumindo o dióxido de Carbono produzido pela oxidação bacteriana da matéria orgânica, elevando o pH do meio.

Desta forma, pode-se afirmar que a microalga *Chlorella sp* apresenta-se como uma excelente alternativa no tratamento de imobilização natural ou artificial para a recuperação de águas residuais principalmente na presença de polímeros formados, partindo de uma composição homogênea e estruturalmente estabilizada, devido ao seu alto volume de concentração, fácil cultivo e efetiva atuação na remoção de diversos resíduos encontrados em ambientes aquáticos.

3.5.2 Alginato de Cálcio

De acordo com Guo et al. (2006), o alginato é um polissacarídeo linear extraído de algas marrons e formado pela união de ácido manurônico e ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4), além da presença de ácido gulurônico unidas à ligações do tipo α (1 \rightarrow 4)

Para Sanches (1995 apud SOUSA, 2005, p. 40):

O alginato é um copolímero natural de ácido manurônico e gulurônico unidos por ligações glicosídicas, em várias proporções e arranjos. O alginato é encontrado na natureza como constituinte de algumas algas como *Laminaria hyperborea* e *L. digitata*. As propriedades físicas das esferas de alginato de cálcio dependerão da composição, estrutura sequencial e peso molecular do polímero.

Devido essa formação, o alginato de cálcio tem encontrado terreno fértil no tratamento de águas residuais, quando utilizado através de gel produzido a partir de sua matriz, utilizada como suporte na imobilização de microalgas *Chlorella sp.*

No entanto, para a realização do processo de imobilização das microalgas *Chlorella sp* em matriz de alginato de cálcio, são necessárias informações precisas como o diâmetro das esferas, a concentração de células em suspensão, o número total de células a serem imobilizadas, bem como o número total de esferas produzidas ao final do processo (SOUZA, 2005).

O processo de imobilização se inicia através da produção do gel de alginato, o qual se caracteriza por atóxico, com grande absorção aquática e suas células não passam por mudanças físico-químicas significativas durante o processo de imobilização (ALVES, 2011). De acordo com Moreno-Garrido (2008), a gelificação, como é denominada o processo de produção, acontece de forma rápida através da formação de gotas suspensas formada por células ou enzimas além do alginato de sódio que são compostas por uma solução com íons formadores de gel, geralmente Ca^{2+} .

Segundo Cohen (2001), estudos realizados mostram que a imobilização da microalga *Chlorella* em matriz de alginato de cálcio proporciona um efeito eficaz na remoção de diversos resíduos em águas poluídas. É através do isolamento de um grupo de microalgas *Chlorella sp* nas condições metabólicas ideais na presença do alginato de cálcio, que há a mudança das condições do ambiente aquático, realizando assim o tratamento da água.

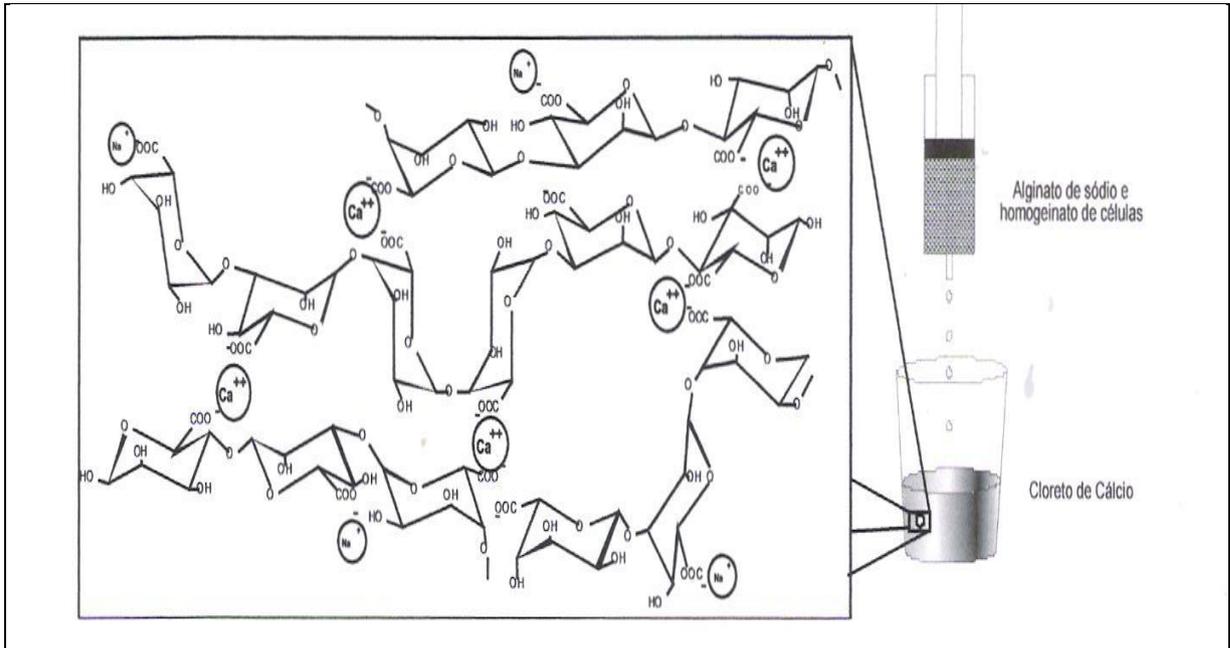


FIGURA 1: Formação do gel de alginato de cálcio por engaiolamento.

Fonte: Wang et al. (2005)

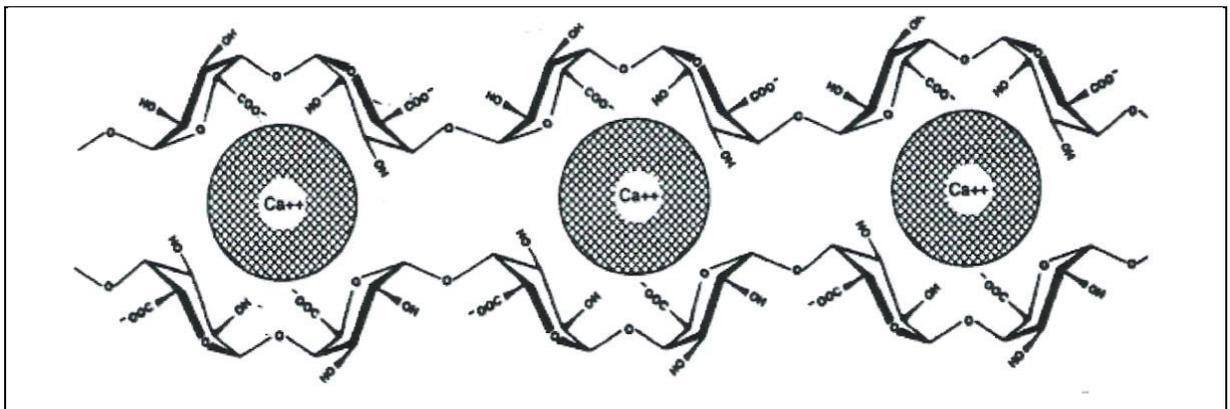


FIGURA 2: Modelo "Egg-Box", para a formação do gel de alginato com íons de cálcio.

Fonte: Rousseau et al. (2004).

A geleificação do alginato é principalmente alcançada pela troca de íons por cátions divalentes, tais como Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} ou Mn^{2+} . A formação e as propriedades do gel de alginato de cálcio têm sido bastante estudadas. Existe uma vasta concordância que a rede de gel, induzida pela ligação do íon Ca^{2+} e pela cadeia de segmentos do grupo G, formam junções estáveis (uma rede tridimensional) consistindo nos principais dímeros, conforme a Figura 2. ROY e GUPTA (2004 apud SILVA 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 LOCALIZAÇÃO DO SISTEMA EXPERIMENTAL

O trabalho foi realizado na Estação Experimental de Tratamentos Biológicos de Esgotos Sanitários (EXTRABES) situada no Bairro do Tambor, numa área pertencente à Companhia de Água e Esgotos da Paraíba sob responsabilidade da Universidade Estadual da Paraíba, na cidade de Campina Grande – PB, com coordenadas geográficas de 7^o14'22" S e 35^o53'05"W e altitude de 550m.

4.2 ISOLAMENTO DA *CHLORELLA SP.*

As cepas de *Chlorella sp.* foram coletadas em uma lagoa de estabilização, com dimensões de 1m de largura, 5 m de comprimento e 50 cm de profundidade situada na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários – EXTRABES, as quais foram isoladas em placas de Petri contendo ágar à 2%. Portanto, coletou-se e centrifugou-se 100 mL de água da lagoa de estabilização contendo células de algas as quais, foram inoculadas em tubos de ensaio pré-esterilizados contendo Meio Basal Bold" s (MBB) com 2% de Agar.

Estes foram mantidas em fotoperíodo de 24 horas em sala de cultivo com temperatura controlada (27^oC) sob iluminação de lâmpadas fluorescentes de 40 watts. Passadas três semanas, identificaram-se o gênero algal em um microscópio eletrônico, sendo esse procedimento de repicagem, repetido em novos tubos de ensaio contendo o MBB com ágar a 2%.

Ao transcorrer três semanas, procederam-se com os repiques da microalga em 100 mL de MBB líquido em erlenmeyers de 250 mL. Após três semanas, centrifugou-se todo o meio de cultivo, recolhendo-se 10 mL de algas concentradas que foram adicionadas em 500 mL do MBB, e colocadas em câmaras de cultivo, aerada com uma bomba de aquário.

4.3 MANUTENÇÃO DA CULTURA

Para o cultivo das cepas de *Chlorella sp* utilizou-se a metodologia proposta por Bischoff, Bold (1943) e Borowitzka (1988). O sistema de cultivo era composto por 6 erlenmeyers de 2L, contendo 1600 mL de Meio Basal Bold™ s cada; 3 erlenmeyers de 1L e 3erlenmeyers de 250 mL.

Estes foram todas repicadas com algas (*Chlorella sp.*) na proporção de 2:100 (2 mL de microalgas para cada 100 ml de MBB – Meio Basal Bold's), na fase estacionária. Os cultivos dos erlenmeyers de 2L metade deles (três erlenmeyers de 2L) eram mantidos sob aeração por uma bomba de aquário e a outra parte através de um nebulizador, já os demais não eram aerados apenas homogêneos manualmente diariamente.

Todos os sistemas de cultivo eram mantidos a uma distância de 15 cm de uma série de 8 (oito) lâmpadas fluorescentes instaladas verticalmente, com irradiação aproximada de 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a 27°C (Figura 1). Já para as culturas estoque, seguiram-se a metodologia de (GUERRERO III; VILLEGAS, 1988), as quais foram preparadas em tubos de ensaio e mantidas a 4°C.



FIGURA 3:Meio de Cultivo autotrófico estacionário e culturas 48 horas após inoculação.

FONTE:Araújo (2011)

4.4 IMOBILIZAÇÃO DA *CHLORELLA SP.*

Ao transcorrer 7 dias do meio de cultivo, coletou-se 1 L deste material e centrifugou-se a 3000 rpm por 15 minutos até se obter 100 mL de extrato algal, que era homogêneo manualmente em 100 mL de alginato de sódio anteriormente preparado. O alginato de sódio foi preparado na concentração de 8% para obter

esferas a 4%, ou seja, diluiu-se 8 gramas de alginato de sódio em 100 ml de água destilada e autoclavou-se a 121°C durante 15 minutos. Em seguida esperou-se esfriar e misturou-se os 100 mL de extrato algal na suspensão de alginato de sódio a 8%, a qual foi vertida em uma bureta de 50 mL, que ia gotejando em um béquer de 1000 mL, sob agitação constante de um agitador magnético, contendo 200 mL de solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) a 0,4 M, preparada anteriormente e autoclavada a 121°C por 15 minutos.

Ao gotejar todo material ficava em agitação constante por 30 minutos, para garantir a formação rígida das esferas de alginato de cálcio. Após os trinta minutos as esferas foram lavadas em água destilada abundante, e mantidas imersas nesse meio líquido em um refrigerador a 4°C.



FIGURA 4: Bioreatores

FONTE: Silva (2011)

Os biorreatores foram preenchidos com 500 mL de esferas com algas imobilizadas em alginato de sódio a 4%, aproximadamente 9014,2 esferas. Estes eram alimentados com efluente secundário oriundo de um filtro aeróbio por uma bomba de pulso conectada em suas torneiras inferiores. Ao finalizar cada experimento, eram esvaziados os biorreatores e realimentava-se com água destilada para que as esferas ficassem em repouso.

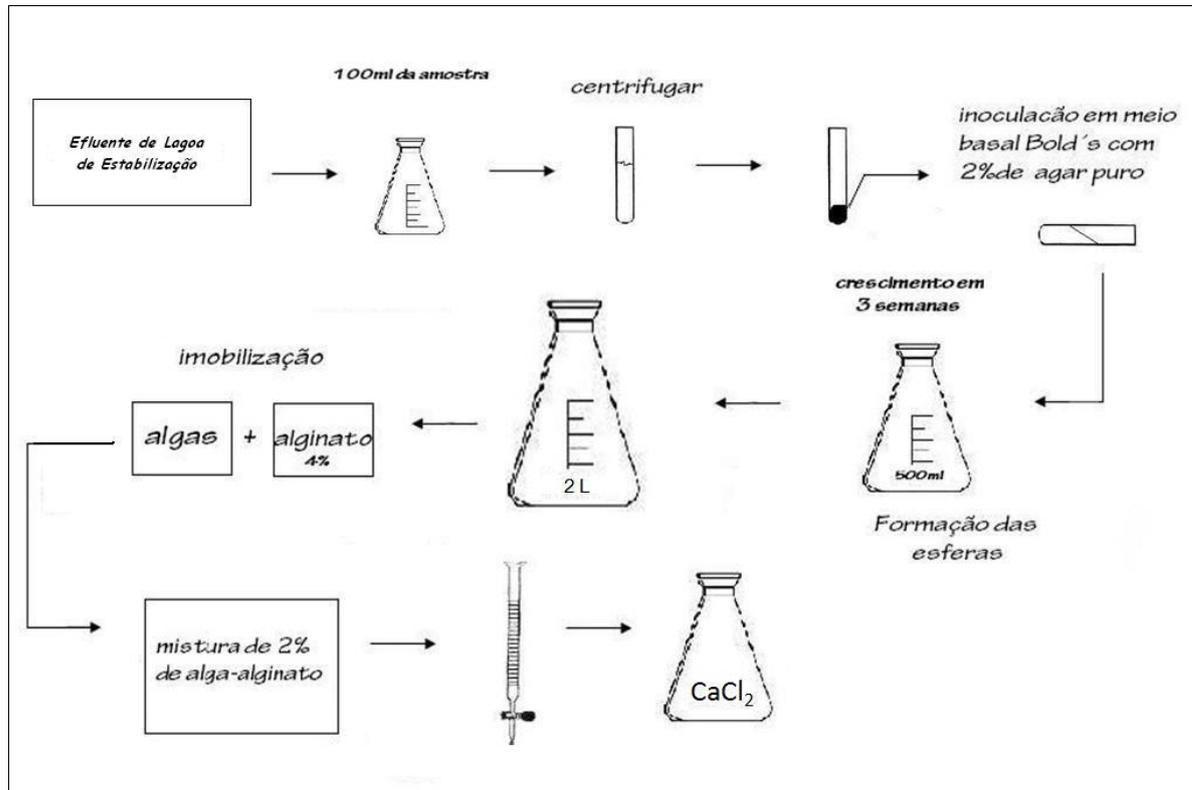


FIGURA5: Esquema do isolamento, cultivo e imobilização da *Chlorella sp*

Fonte:Silva(2011).

4.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DAS ESFERAS

Objetivando-se medir o diâmetro médio, a massa e o volume das esferas (Figura 3) foram tomados 1000 mL de esferas, as quais foram colocadas em uma bandeja e utilizando-se a técnica do quarteamento, retirou-se uma amostra representativa, que foi de 135 esferas, onde foram avaliadas as medidas supracitadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Buscando determinar o crescimento e o tempo de cultivo das microalgas, a Figura 5 ilustra as curvas de crescimento da *Chlorella sp* em um intervalo de tempo de zero a quatorze dias.

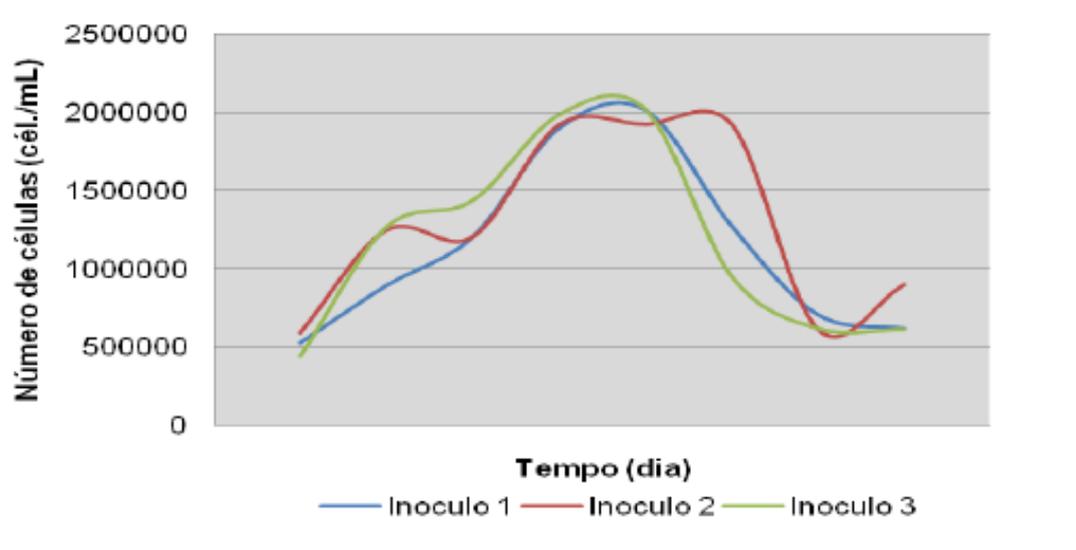


Figura 6. Curva de crescimento da *Chlorella sp* ao longo de 14 dias.

Fonte: Sousa, 2011.

O crescimento de *Chlorella sp* para os três inóculos (Figura 5) mostrou que a adaptação da microalga ao Meio Basal Bold's (MBB) foi eficaz, uma vez que a densidade celular aumentou no decorrer dos sete dias de cultivo, no qual apresentaram o máximo crescimento.

Observando-se a Figura 5 percebe-se que durante todo o experimento (14 dias) de cultivo o crescimento da microalga foi exponencial com concentrações de $20,12 \times 10^5$ células/mL, $19,26 \times 10^5$ células/mL e $20,21 \times 10^5$ células/mL para os inoculos 1, 2 e 3 respectivamente, chegando a decair a partir do oitavo dia. O mesmo comportamento de crescimento foi verificado por Bertoldi et al (2007), quando do cultivo de *Chlorella vulgaris* em solução hidropônica residual com três diferentes concentrações: solução hidropônica residual pura (SHR), SHR50 e SHR25 diluídas em água deionizada obtendo concentrações de 50% e 25% respectivamente, onde obteve no período de 7 dias as seguintes concentrações $5,7 \times 10^6$, $4,2 \times 10^6$ e $1,0 \times 10^7$ células/mL respectivamente. Rodrigues e Filho (2004) cultivando *Chlorella minutíssima*, também em Meio Basal Bold's, encontraram concentrações celulares de $24,5 \times 10^5$ e $52,0 \times 10^5$ células/mL para os períodos de 5 e 10 dias respectivamente.

Após todo o processo de imobilização foi realizada a aferição dos parâmetros desejados através da metodologia descrita, onde foram obtidos os seguintes resultados: As esferas apresentaram um diâmetro médio de 4mm, massa média de 0,371g e um volume aproximado de 33,51mm³. Marcon (2005) e Silva (2011), trabalhando com *Chlorella sp* imobilizada em matriz de alginato de cálcio, obtiveram resultados semelhantes para o diâmetro.



FIGURA7: Esferas com algas imobilizadas.

Fonte: Sousa, 2011.

Na Figura 8, estão representados valores médios, em espaço temporal, do potencial hidrogeniônico (pH) do efluente analisado nos biorreatores. Monitorou-se o pH, usando pHmetroThecnal- Tec- 3 PM.

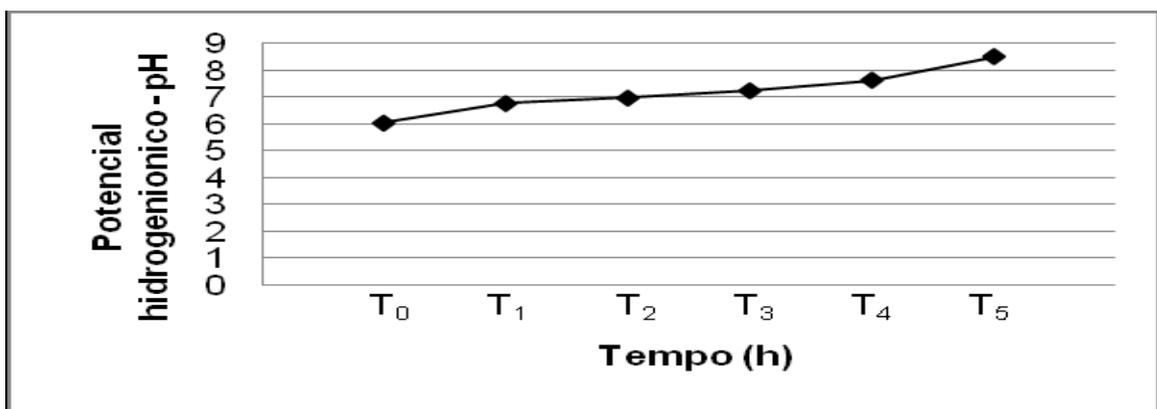


FIGURA8: Valores médios do pH no biorreator durante cinco horas de reação, referente aos meses de abril a junho de 2011.

Fonte: Araújo, (2011).

Observando-se a (Figura 8) percebe-se um aumento significativo do pH para o tempo de cinco horas de reação, o qual atingiu valor médio de 8,5.

O aumento do pH no meio de cultivo era esperado neste trabalho, pois o aumento da densidade celular das microalgas faz com que a atividade fotossintética reduza o teor de CO₂ no meio de cultivo.

Segundo Silva (2011) o aumento do pH em função do oxigênio dissolvido é decorrente da intensa atividade fotossintética.

De acordo com Araújo (2011), o acréscimo significativo da concentração da alcalinidade total é porque a produção de CO₂ a partir dos íons de bicarbonatos foi bastante superior a atividade fotossintética das microalgas no sistema, isso em decorrência da pouca luminosidade, e da compactação das esferas no interior do biorreator. Pois, a alcalinidade total é um parâmetro associado à presença de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos. Os bicarbonatos na massa líquida tendem a se dissociarem formando o dióxido de carbono (CO₂) e liberando hidroxilas (OH⁻) para o meio. Quanto mais alta é a atividade fotossintética das algas, maior é a necessidade por CO₂, e conseqüentemente maior é a concentração de alcalinidade total.

De acordo com (SILVA 2011), pH é um parâmetro importante que exerce influência fisiológica e controla o crescimento microalgal. No estudo desenvolvido por Silva (2006), o crescimento de *Chlorella vulgaris* em MBB foi eficiente em pH de 6,8 a 8,8. Logo, no presente estudo ocorreu uma variação de pH esperada e satisfatória de 6,0 à 8,5 em 5 horas de contato das esferas com o efluente contaminado, confirmando a ação esperada das microalgas *Chlorella sp* imobilizadas em matriz de alginato de cálcio.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O crescimento das microalgas *Chlorella sp* para os três inóculos (Figura 5) mostrou que a adaptação da microalga ao Meio Basal Bold's foi eficaz, uma vez que a densidade celular aumentou no decorrer dos sete dias de cultivo, onde apresentaram o crescimento máximo.

Esse resultado pode ser explicado pelo fato da amostra utilizada na inoculação estar em fase logarítmica (exponencial), onde o meio estava com ampla disponibilidade de nutrientes, não requerendo da célula maior fase de aclimatação. Conforme a Figura 5, a partir do 5º dia, foram atingidos valores médios de $1,28 \times 10^6$ células/mL, revelando estar na fase logarítmica. A DCM (densidade celular máxima) foi atingida no término da primeira semana. Resultados semelhantes foram obtidos por Silva (2011).

A fase de declínio teve início aproximadamente no 8º dia de cultivo. Os resultados indicam que a *Chlorella sp* deve ser imobilizada entre o 5º e o 7º dia, onde sua velocidade de crescimento é máxima.

Os valores médios de pH obtidos da leitura de cada amostra coletada dos bioreatores de 1,0L, revelaram que o incremento que ocorreu ao longo de 5 horas foi de 2,5, partindo-se de 6,0 e chegando a 8,5 unidades de pH na 5ª hora de contato. Esse resultado demonstra o aumento do pH do meio em contato com as esferas de microalgas imobilizadas em meio de alginato de cálcio, devido a intensa atividade fotossintética das mesmas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, H. B.; MOCHIDA, G. A.; CRUZ, G. J. G. da; DUMA, M.; GOMES, C. S. Precipitação química e cloração para combate a maus odores em estações de tratamento de esgoto anaeróbias. Curitiba-PR, **Sanare. Revista Técnica da Sanepar**, v.21, n.21, p. 19-32, jan./jun. 2004.
- ALVES, L. S. **Aplicação de algas imobilizadas na remoção de nutrientes de efluente sanitário**. 2011. Monografia. Disponível em: <<http://dspace.bc.uepb.edu.br:8080/xmlui/handle/123456789/406>>. Acesso em: 12 fev 2013.
- ARAÚJO, Narcísio Cabral de. **Tratamento de esgoto sanitário a baixo custo, objetivando produzir efluente para uso agrícola**. RELATÓRIO PARCIAL DO PIBIC. Campina Grande-PB: UEPB, 2011.
- BARCELLOS, C. H.; CARVALHO, A. R. P. **Tratamento biológico de efluentes**. São Paulo: Kurita, 2006.
- COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, R. da. Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. Londrina-SC, **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 28, n.2, p. 143-160, jul./dez. 2007
- CRUZ, P. N. **Tratamento de Águas Residuais**. 2009. Disponível em: <<http://bdigital.unipiaget.cv:8080.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2013.
- DINIZ, M. A.; MONTEIRO, A.; BOAVENTURA, R. **Tratamento de águas residuais: o papel das microalgas**. Artigo. 2008. Disponível em: <<http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/557/1/41FCT2004.pdf>>. Acesso em: 12 fev 2013.
- GAYLARD, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Aspectos biológicos e técnicas da biorremediação de xenobióticos. Brasília-DF, **Revista Biotecnologia**, Ciência e Desenvolvimento, v. 8, n. 34, jan./jun. 2005. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/edicoes/ed34.php>>. Acesso em: 10 fev. 2012.
- GUIMARÃES, J. R.; ABDUL NOUR, E. A. Tratando nossos esgotos: processos que imitam a natureza. Artigo. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, Maio de 2001.
- HESPANHOL, I. Potencial de Reuso de Água no Brasil: Agricultura, Indústria, Municípios, Recarga de Aquíferos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos – RBRH**, v. 7, n. 4, p. 75-95, out./ dez., 2002.
- MARCON, A. E. **Remoção de coliformes fecais com microalgas (Chlorella) imobilizadas em matriz de Alginato de cálcio**. Dissertação de Mestrado. Natal-RN: UFRN, 2005.
- MARIANO, A. P. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel**. 2006. UEP: Rio Claro, 2006.

MEYER, S. T. **O Uso de Cloro na Desinfecção de Águas, a Formação de Trihalometanos e os Riscos Potenciais à Saúde Pública**. Artigo, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/csp/v10n1/v10n1a11.pdf>>. Acesso em 13 fev. 2012

MORENO-GARRIDO, I. **Microalgae immobilization**: Current techniques and uses. *BioresourceTechnology*, v. 99, 2008.p.3949–3964.

NASCIMENTO, J. C. do. **Co-remoção de fósforo e coliformes termotolerantes de efluentes secundários usando microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio**. Monografia. Campina Grande-PB: UEPB, 2011.

NUNES, J. A. **Tratamento Biológico de Águas Residuais**. 2. ed. São Paulo: Martins Fontes, 2010.

PEARSON, H. W. **Tecnologia de algas imobilizadas para remoção de nutrientes de águas residuais**. Campina Grande-PB: UEPB, 2008.

PEREIRA, A. R. B.; FREITAS, D. A. F. de. Uso de microrganismos para a biorremediação em ambientes de impacto. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.6, n.6, p. 975 – 1006, 2012. Disponível em: <www.ufsm.br/reget>. Acesso em: 12 fev 2013

SILVA, M. C. C. de P. e. **Tratamento terciário de efluente secundário, usando a microalga chlorellasp. imobilizada em matriz de alginato de cálcio**. 2011. Dissertação. Disponível em: <www.pos-graduacao.ascom.uepb.edu.br/ppgcta/?wpfb_dl=27>. Acesso em: 23 fev 2013.

SILVA, S. A. P. da. **Biorremediação em águas residuais: remoção de fosfatos utilizando microalgas Chlorellavulgaris imobilizadas em meio de alginato de sódio**. Dissertação. 2007. Disponível em: <http://www.fc.up.pt/fcup/contactos/teses/t_040370163.pdf>. Acesso em: 12 fev 2013.

SOARES, H. M. **Tratamento de Efluentes**. 2007. Apostila. Florianópolis-SC: UFSC. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/63460243/Apostila-Tratamento-de-Efluentes>>. Acesso em: 05 mar 2013.

SOUZA, A. F. B. C. Avaliação do processo de hidrólise e fermentativo de biomassa de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) por meio de células imobilizadas para produção de etanol. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente). Universidade Federal do Tocantins, Palmas-TO, 2005. Disponível em: <www.site.uft.edu.br/component/option,com_docman>. Acesso em: 23 fev 2013.

VIDOTTI, E.C.; ROLLEMBERG, M. C.E. (2004). Algas: da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. São Paulo. **Revista Química Nova**, v.27, n.1, pp. 139-145, 2004.

VON SPERLING, E. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuais: Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos**. vol 1, 9. ed. Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.

VON SPERLING, M. et al. Impacto dos Nutrientes do Esgoto Lançado em Corpos de Água. In: MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, Marcos (coord.). **Prosab**.Rio de Janeiro: ABES, Rio p. 26 – 51, 2009.