



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**

LUCAS DA SILVA ALVES

**APLICAÇÃO DE ALGAS IMOBILIZADAS NA REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE
EFLUENTE SANITÁRIO**

**CAMPINA GRANDE – PB
2011**

LUCAS DA SILVA ALVES

**APLICAÇÃO DE ALGAS IMOBILIZADAS NA REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE
EFLUENTE SANITÁRIO**

Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Sanitária e Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Howard William Pearson

**CAMPINA GRANDE – PB
2011**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

A187a Alves, Lucas da Silva.
Aplicação de algas imobilizadas na remoção de nutrientes de efluente sanitário [manuscrito] / Lucas da Silva Alves. – 2011.
42.f. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental) – Centro de Ciências e Tecnologias, 2011.

“Orientação: Prof. Dr. Howard William Pearson, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental ”

1. Água Tratamento Químico. 2. Eutrofização. 3. Remoção de nutrientes. 4. Microalgas imobilizadas. I. Título.

21. ed. CDD 628.166

LUCAS DA SILVA ALVES

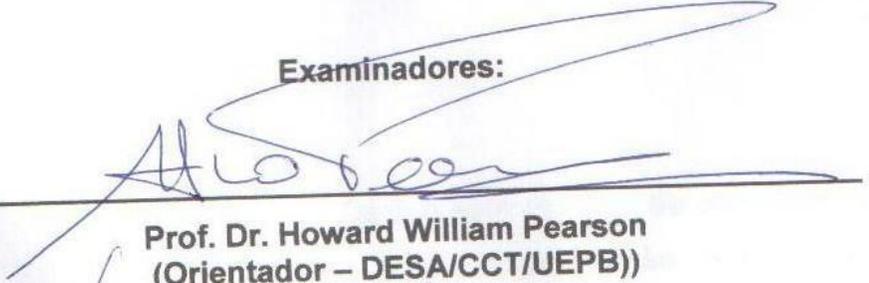
APLICAÇÃO DE ALGAS IMOBILIZADAS NA REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE
EFLUENTE SANITÁRIO

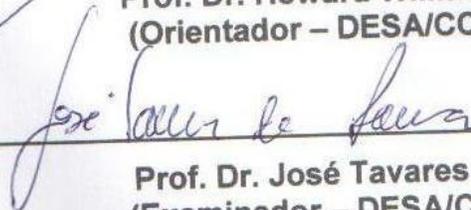
Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado
ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
da Universidade Estadual da Paraíba como requisito
parcial para a obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Sanitária e Ambiental.

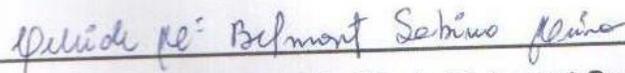
Aprovado em: 18/11 /2011

Nota: 9,6 (Nove, seis)

Examinadores:


Prof. Dr. Howard William Pearson
(Orientador – DESA/CCT/UEPB))


Prof. Dr. José Tavares de Sousa
(Examinador – DESA/CCT/UEPB)


Profa. Dra. Celeide Maria Belmont Sabino Meira
(Examinadora – DESA/CCT/UEPB)

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

AGRADECIMENTOS

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

Ao meu irmão Marcelo e sua esposa Sonayra, pelo apoio nesse período que foi tão difícil para nossa família, sem eles com certeza não teria conseguido.

Ao professor Howard William Pearson, por aceitar o convite de ser meu orientador, me dando a oportunidade de trabalhar com o tema.

Aos professores Celeide Maria Belmont Sabino Meira e José Tavares de Sousa, por aceitarem o convite para fazer parte da comissão examinadora deste trabalho.

Ao meu amigo Narcísio, pela sua disposição em me ajudar sempre, e a todos os outros colegas e amigos de curso, pelos momentos de descontração e pela união que tivemos desde o começo.

“Guarda-me, ó Deus, porque em ti me refugio.
Digo ao Senhor: Tu és o meu Senhor; Outro bem
não possuo senão a ti somente”.

(Salmo 16, versículo 1 e 2)

RESUMO

Com o consumo cada vez mais elevado de água pela população mundial, elevou-se também os impactos negativos causados pelo lançamento dos efluentes gerados aos corpos de água, como é o caso da eutrofização. A aplicação biotecnológica das microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio tem encontrado terreno fértil no tratamento de águas residuárias. Esse estudo investigou o potencial da microalga *Chlorella sp.* na remoção de nutrientes em escala laboratorial. O sistema experimental constitui-se de 4 biorreatores, cada um com 54 cm de comprimento e um volume de 129,7 mL, preenchidos com microalgas imobilizadas em esferas de alginato de cálcio em uma concentração de 4%. Os biorreatores foram alimentados por efluente de um reator UASB em regime de batelada com tempo de contato de 4 h. O experimento foi realizado sob temperatura controlada de 27°C e iluminação artificial feita através de 4 lâmpadas fluorescentes de 40 watts. Os resultados alcançados das remoções de fósforo total e ortofosfato foram de 48,44% e 60,89% respectivamente. Para o nitrogênio remoções médias de amônia de 55,52% e acréscimos de nitrato em pequena quantidade. As remoções evidenciaram o potencial do uso de microalgas na remoção desses nutrientes, se caracterizando em uma forma natural de tratamento que não gera poluentes secundários.

PALAVRAS-CHAVE: Eutrofização. Remoção de nutrientes. Microalgas imobilizadas.

ABSTRACT

With the ever increasing consumption of water by the population, also increased the negative impacts caused by the release of effluents generated into water bodies, such as eutrophication. The application of biotechnology microalgae immobilized in calcium alginate matrix has found fertile ground in the treatment of wastewater. This study investigated the potential of microalgae *Chlorella sp.* nutrient removal in laboratory scale. The experimental system consists of four bioreactors, each with 54 cm in length and a volume of 129.7 mL, filled with microalgae immobilized in calcium alginate beads at a concentration of 4%. The bioreactors were fed UASB reactor effluent in a batch system with contact time of 4 h. The experiment was conducted under controlled temperature of 27 ° C and artificial lighting done by four fluorescent lamps of 40 watts. The results achieved removals of total phosphorus and orthophosphate were 48.44% and 60.89% respectively. For nitrogen average removals of 55.52% and ammonium nitrate additions in small quantities. The removals showed the potential use of microalgae in removal of nutrients, is featuring in a natural form of treatment that does not generate secondary pollutants.

KEYWORDS: Eutrophication. Nutrient removal. Microalgae immobilized.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Formação do gel de alginato de cálcio por engaiolamento.....	21
Figura 2 – Meio de Cultivo da <i>chlorella sp.</i> em Meio Basal Bold's.....	26
Figura 3 – Esferas com algas imobilizadas.....	27
Figura 4 – Esquema do sistema experimental.....	28
Figura 5 – Média da remoção de fósforo total em função do tempo.....	30
Figura 6 – Percentual de fósforo total no efluente em função do tempo.....	31
Figura 7 – Média da remoção de ortofosfato em função do tempo.....	31
Figura 8 – Percentual de ortofosfato no efluente em função do tempo.....	32
Figura 9 – Média da remoção de nitrogênio amoniacal em função do tempo.....	33
Figura 10 – Percentual de nitrogênio amoniacal no efluente em função do tempo.....	34
Figura 11 – Média das variações do pH em função do tempo.....	35
Figura 12 – Média dos valores de nitrato em função do tempo.....	36
Figura 13 – Média do consumo de alcalinidade em função do tempo.....	37
Figura 14 – Percentual de alcalinidade (CaCO ₃) no efluente em função do tempo..	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Médias das concentrações de fósforo total para cada tempo de contato nos experimentos.....	32
Tabela 2 – Médias das concentrações de ortofosfato em cada tempo de contato obtidas nos experimentos.....	33
Tabela 3 – Médias das concentrações de nitrogênio amoniacal em cada tempo de contato obtidas nos experimentos.....	34
Tabela 4 – Médias dos valores de pH do efluente em cada tempo de contato.....	35
Tabela 5 – Médias das concentrações de nitrato em cada tempo de contato.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAGEPA – Companhia de Água e Esgoto da Paraíba;

CCT – Centro de Ciências e Tecnologia;

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente;

DQO – Demanda química de oxigênio;

EUA – Estados Unidos da América;

EXTRABES – Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários;

FCR – Força Centrífuga Relativa;

MBB – Meio Basal Bold's;

PROSAB – Programa de Pesquisas em Saneamento Básico;

UASB – Reator Anaeróbio de Manta de Lodo;

UEPB – Universidade Estadual da Paraíba;

LISTA DE SÍMBOLOS

N – nitrogênio;

P – fósforo;

% – porcentagem;

pH – potencial hidrogeniônico;

HPO₄⁻² – ortofosfato;

μm – micrómetro;

m – metro;

mL – mililitros;

°C – grau celsius;

L – litro;

cm – centímetro;

CaCl₂ – cloreto de cálcio;

M – molar;

mm – milímetro;

g – grama;

mm³ – milímetro cúbico;

μE. s⁻¹.m⁻² – mili einstein por segundo por metro quadrado;

μg/mL – micrograma por mililitro

CO₂ – dióxido de carbono;

μg/esfera – micrograma por esfera;

mg/L – miligramas por litro;

h – hora;

rpm – rotações por minuto;

CaCO₃ – carbonato de cálcio;

O₂ – oxigênio;

NO₂⁻ – íon nitrito;

NO₃⁻ – íon nitrato;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
3.1 Eutrofização.....	16
3.2 Nutrientes.....	17
3.2.1 Nitrogênio.....	17
3.2.2 Fósforo.....	18
3.3 Biorremediação e biotecnologia.....	19
3.4 Imobilização celular.....	20
3.4.1 Alginato.....	21
3.4.2 Microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio.....	22
3.4.3 <i>Chlorella sp.</i>.....	22
3.4.4 As algas e sua aplicação no tratamento de águas residuárias.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Localização do sistema experimental.....	24
4.2 Planejamento experimental.....	24
4.3 Isolamento da <i>Chlorella sp.</i>.....	24
4.4 Manutenção da cultura.....	25
4.5 Imobilização da <i>Chlorella sp.</i>.....	26
4.6 Caracterização física das esferas.....	27
4.7 Caracterização dos biorreatores.....	27
4.8 Monitoramento dos biorreatores e realização dos experimentos.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
6 CONCLUSÕES.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

Nos dias de hoje, com a crescente poluição dos recursos naturais e sua conseqüente destruição, destaca-se a poluição dos recursos hídricos, diretamente associada com a explosão demográfica evidenciada nas últimas décadas. Esse crescimento populacional aumentou também o consumo de água para atender padrões cada vez mais exigentes, incrementando também os volumes de efluente doméstico gerado. Esse aumento na geração de águas residuárias somado ao uso intensificado de defensivos agrícolas e fertilizantes tem aumentado consideravelmente o aporte de nutrientes aos ecossistemas aquáticos, acelerando cada vez mais seus processos de eutrofização que se caracterizam pela morte gradual do corpo aquático, destruindo sua biodiversidade e aos poucos transformando-o em ecossistema terrestre.

É nesse contexto de escassez de recursos hídricos, grandes e crescentes demandas por água e redução da disponibilidade da mesma, por causa da poluição, que se faz necessário o uso de tecnologias inovadoras que possam reduzir o enriquecimento acelerado de nutrientes aos corpos aquáticos, que na estação de tratamento de efluentes não são removidos através do tratamento convencional.

Segundo Marcon (2005), com a finalidade de minimizar estes impactos foram desenvolvidas formas de tratamentos para essas águas residuais, eliminando sua carga poluidora, principalmente através da utilização de microorganismos que se proliferam naturalmente no solo e na água, digerindo as matérias orgânicas e inorgânicas existentes nos dejetos e contaminantes, objetivando otimizar a eficiência e minimizar os custos.

O uso da biorremediação através de microalgas imobilizadas tem se mostrado uma boa alternativa, apresentando resultados satisfatórios na remoção de nutrientes do efluente sanitário sem risco de geração de produtos indesejáveis ao meio ambiente posteriores ao tratamento.

Segundo Pearson et al., (2011), pouca atenção tem sido dada ao potencial uso de sistemas de algas imobilizadas na desinfecção de efluentes, e que estudos em escala piloto envolvendo este tipo de tecnologia para investigar a remoção de bactérias, protozoários e vírus podem fornecer informações quanto à adequação de tal tecnologia

de desinfecção relativamente pouco dispendiosa como uma alternativa para lagoas de maturação convencional, pelo menos no caso do modelo de sistema de coliformes termotolerantes, o tempo de desinfecção pode ser reduzido de vários dias para horas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a remoção de nutrientes de efluentes de reatores anaeróbios utilizando-se microalgas imobilizadas.

2.2 Objetivos Específicos

- Investigar a eficácia de microalgas imobilizadas em alginato de cálcio na remoção de nutrientes de efluente de reatores anaeróbios.
- Avaliar a máxima eficiência de remoção de fósforo e nitrogênio amoniacal (amônia) do efluente de um reator UASB através de um sistema com microalgas (*Chlorella sp.*) imobilizadas em matriz de alginato de cálcio.
- Verificar o impacto do tempo de contato no grau de remoção de N e P.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Eutrofização

A eutrofização é o enriquecimento do meio aquático com nutrientes, causando o crescimento de organismos e plantas aquáticas, tanto planctônicas quanto aderidas, que podem atingir níveis tais que sejam causadores de interferências aos usos desejáveis do corpo d'água. Normalmente, o maior fator de preocupação são as algas, cujo crescimento depende do aporte de nutrientes como nitrogênio e fósforo. Quando a concentração dos nutrientes é elevada, tem-se também a elevação da concentração de algas no meio aquático – que pode chegar a níveis tais que cause problemas aos vários usos previstos para o corpo d'água. Em condições de elevada eutrofização, as algas poderão atingir superpopulações, no evento denominado florações das algas. A eutrofização pode também ter como resultado a proliferação de macrófitas, especialmente o aguapé (gigoga, jacinto de água) (VON SPERLING *et al*, 2009).

De acordo com Braga *et al.*, (2005), quando este processo ocorre de forma espontânea, esse processo se caracteriza como natural dentro da sucessão ecológica dos ecossistemas, quando o ecossistema lacustre tende a se transformar em um ecossistema terrestre utilizando a interação do lago com o meio terrestre que o circunda.

A eutrofização natural é um processo bastante demorado, associado ao tempo de evolução dos ecossistemas. No entanto esse processo vem se acelerando pela intervenção humana em lagos cujas bacias sofrem a ocupação de atividades industriais, agrícolas ou zonas urbanas. A eutrofização associada á intervenção humana é chamada de eutrofização cultural ou acelerada, (BRAGA *et al.*, 2005), acarretando assim a perda da biodiversidade em um processo de morte gradual do corpo aquático.

No Brasil pouca atenção tem sido dada ao problema da eutroficação das águas superficiais. Em países europeus, nos EUA e no Canadá, desde a primeira metade do século XX, são desenvolvidas pesquisas e programas para controle e manejo do estado

trófico, principalmente dos lagos, reservatório e estuários (TUNDISI, 2003 *Apud* PELLEGRINI, 2005).

Esta grande floração de algas pode ser também conhecida como “*Bloom*” e pode estar associada ao lançamento de efluentes domésticos e industriais com concentrações excessivas de matéria orgânica e nutrientes.

Outra consequência, freqüente, de um desenvolvimento algal é a excreção de substâncias que podem degradar a qualidade da água, tornando-a imprópria para uso, e afetando organismos do ecossistema aquático pelo seu efeito tóxico.

3.2 Nutrientes

Segundo Silva (2011), os fosfatos e nitrogênio são elementos eutrofizantes em relação aos nutrientes contidos em uma massa de água, sendo sua monitoração, de grande interesse na prevenção do comprometimento da qualidade da água, no âmbito da gestão dos recursos hídricos. O material nitrogenado em águas residuárias se compõe principalmente de nitrogênio amoniacal e nitrogênio orgânico (incluindo uréia, aminoácidos e proteínas).

No Brasil o lançamento de nutrientes nos corpos receptores é regulamentado pela resolução CONAMA 357/2005 que divide as águas em 13 classes, de acordo com seus usos preponderantes, sendo que foi alterada parcialmente e complementada pela resolução CONAMA 430/2011.

3.2.1 Nitrogênio

Segundo von Sperling *et al.*, (2009) no ciclo do nitrogênio na biosfera, este nutriente se alterna entre várias formas e estados de oxidação, como resultado de diversos processos bioquímicos.

O nitrogênio presente no esgoto fresco está quase todo combinado sob a forma de proteína e uréia; as bactérias, no seu trabalho de oxidação biológica, transformam o

nitrogênio presente primeiramente em amônia, depois em nitritos, e em seguida em nitratos (MELO *et al*, 2000).

Em um curso de água, a determinação da forma predominante do nitrogênio pode fornecer indicações sobre o estágio da poluição eventualmente ocasionada por algum lançamento de esgoto a montante. Se esta poluição é recente, o nitrogênio estará basicamente na forma de nitrogênio orgânico ou amônia e, se antiga, basicamente na de nitrato (as concentrações de nitrito são mais reduzidas), desde que se tenha, no meio em questão, o suficiente de oxigênio dissolvido para permitir a nitrificação (VON SPERLING *et al*, 2009).

Nitrogênio merece especial atenção nas análises químicas das amostras dos esgotos porque sendo um nutriente indispensável para o crescimento dos microrganismos responsáveis pela depuração biológica, seus compostos favorecem o desenvolvimento de algas e plantas aquáticas que podem comprometer a qualidade dos efluentes, caso sua presença seja excessiva, favorecendo o aparecimento da eutrofização nos corpos receptores.

3.2.2 Fósforo

O fósforo assim como o nitrogênio, é um nutriente essencial para o crescimento dos microrganismos responsáveis pela biodegradabilidade da matéria orgânica e também para o crescimento de algas, o que pode favorecer o aparecimento da eutrofização nos corpos receptores. Normalmente sua presença em despejos domésticos é suficiente para promover o crescimento natural dos microrganismos, porém certos despejos industriais tratáveis biologicamente podem requerer adição deste elemento como complemento para o desenvolvimento satisfatório da massa biodegradadora.

O fósforo nos esgotos domésticos tem sua origem principalmente no uso de detergentes utilizados nas tarefas de limpeza. De acordo com von Sperling *et al*. (2009). O fósforo presente nos detergentes e na água residuária bruta ocorre na forma de polifosfatos solúveis ou, após hidrólise, na forma de ortofosfatos. O fósforo originário dos detergentes pode representar até 50% da concentração de fósforo total no esgoto

doméstico. Os polifosfatos são moléculas mais complexas com dois ou mais átomos de fósforo. Os polifosfatos se transformam em ortofosfatos pelo mecanismo de hidrólise, que apesar de lento, inicia-se, e parcialmente ocorre, no próprio sistema de coleta de esgoto. Os ortofosfatos são diretamente disponíveis para o metabolismo sem necessidade de conversões a formas mais simples. A forma na qual os ortofosfatos se apresentam na água depende do pH, e incluem PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , H_3PO_4 . Em esgoto doméstico típico, a forma predominante é o HPO_4^{2-} .

Através do tratamento convencional não se consegue remover os teores de fósforo presentes, sendo necessário o emprego de técnicas de tratamento terciário, muitas vezes inviáveis que removem o fósforo, porém podem criar outras substâncias, como é o caso da remoção por precipitação química.

3.3 Biorremediação e biotecnologia

Tendo como base que a ação dos microrganismos serve como uma arma de defesa do meio ambiente contra substâncias invasoras em excesso ou não, a biorremediação se utiliza deste potencial natural que a natureza possui, estabilizando e tornando os poluentes inertes. Neste processo microrganismos vivos são utilizados para degradar os poluentes do solo e das águas superficiais e subterrâneas além de também ser aplicados em resíduos e efluentes industriais.

A biorremediação é um processo importante na diminuição ou mesmo eliminação de contaminantes ambientais, mineralizando os poluentes e libertando apenas substâncias inertes, como dióxido de carbono e água. Existem várias técnicas de biorremediação aplicadas a ecossistemas contaminados (LI *et al.*, 1997 e WISE *et al.*, 2000 *apud* SILVA, 2007).

Os processos de biorremediação encontram terreno fértil na biotecnologia que nos dias atuais está em plena expansão, segundo Borzani *et al.*, (2001) a biotecnologia consiste na utilização de sistemas e de componentes celulares para a obtenção de produtos e para o desenvolvimento de processos industriais. Trata-se de um campo de trabalho multidisciplinar e que encontra aplicações em todos os setores importantes da Economia.

É neste contexto que o uso de algas vem sendo utilizado na biorremediação de águas residuárias. Segundo Franklin, (1992) e Molnar *et al.*, (2002) *apud* Silva, (2007) o uso de algas na recuperação de efluentes contendo espécies metálicas apresenta vantagens, tais como o baixo custo da operação e a elevada eficiência na remoção dos contaminantes de efluentes muito diluídos, tornando-se, assim, uma das técnicas mais utilizadas nos dias de hoje. A avaliação de águas contaminadas com poluentes orgânicos, utilizando filamentos de cianobactérias, por exemplo, mostrou a capacidade natural destes microrganismos para degradar pesticidas alifáticos clorados e outros poluentes.

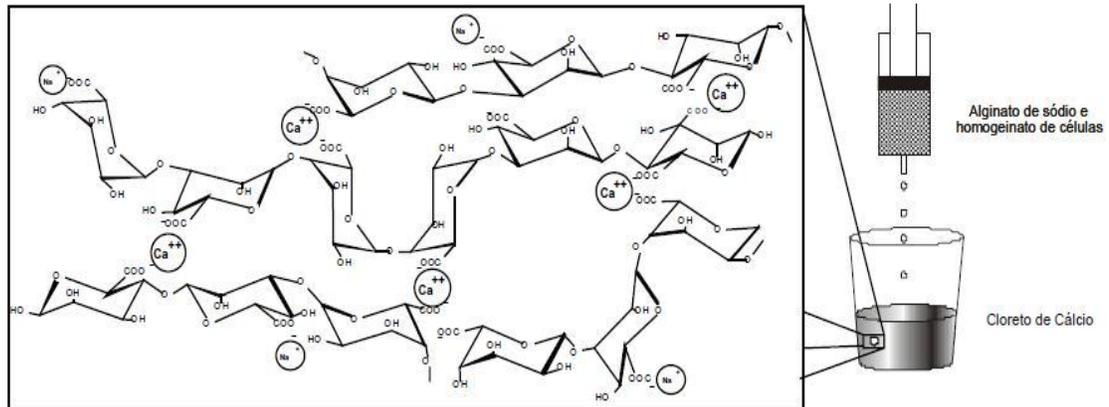
Desta forma, o uso de células de microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio estão sendo cada vez mais empregadas para remoção de nutrientes de efluentes domésticos.

3.4 Imobilização celular

A imobilização de células ou enzimas representa uma alternativa para a condução de bioprocessos uma vez que, teoricamente, os biocatalisadores imobilizados ficam retidos para serem utilizados por tempo indefinido (CANILHA *et al.*, 2006). Segundo Covizzi *et al.* (2007), as técnicas clássicas de imobilização celular podem ser classificadas em naturais e artificiais. As primeiras são as que incluem a formação de biofilmes e a adesão/adsorção microbiana em suportes sintéticos ou naturais, ou seja, ocorrem espontaneamente por meio de interações eletrostáticas. Já as artificiais são aquelas que incluem a encapsulação em matrizes como alginato de cálcio ou uso de agentes ligantes, ou seja, as células são ligadas às matrizes por ligações covalentes, utilizando-se agentes ligantes como glutaraldeído ou carbodiimida. O mesmo autor cita os seguintes tipos de imobilização celular: adsorção, ligação eletrostática e covalente, engaiolamento em matriz porosa, floculação natural e artificial, microencapsulação interfacial e contenção entre micromembranas. A encapsulação, ou mais apropriadamente, 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). O método de engaiolamento está

baseado na inclusão artificial das células, que ficam inseridas em uma malha rígida, ou semi-rígida, que impede a difusão destas para o meio de cultivo (COVIZZI *et al.*, 2007).

Figura 1 – Formação do gel de alginato de cálcio por engaiolamento.



Fonte: Covizzi et al. (2007).

3.4.1 Alginato

Com relação aos materiais imobilizantes utilizados na imobilização celular artificial, Silva (2007) cita nove (acrilamidas, copolímeros, agarose, alginato, gelatina, goma, “Kappa-Carrageenan”, poliuterano e gel de álcool polivinil), que permitem aos microrganismos continuar a sobreviver numa matriz relativamente não tóxica, através das quais, gases e líquidos podem difundir-se. Rodrigues (2010) e Silva (2007) afirmam que o meio de alginato é o suporte mais utilizado na imobilização de células. Os alginatos são extraídos de várias espécies de algas marinhas marrons (*Phaeophyta*), onde agem como componente estrutural na parede celular e nos espaços intracelulares, promovendo rigidez e ao mesmo tempo flexibilidade à parede celular, compreendendo cerca de 40% da matéria seca destes organismos (GARCIA-CRUZ; FOGGETTI E SILVA, 2008).

O gel de alginato não é tóxico, tem baixo custo, possui alta afinidade pela água e as células não sofrem variações físico-químicas extremas durante o processo de imobilização. A gelificação do polissacarídeo é muito rápida e ocorre quando gotas de uma suspensão formada por células ou enzimas e alginato de sódio são misturadas com uma solução contendo íons formadores de gel, geralmente Ca^{2+} . O gel pode ser

redissolvido em meio contendo citrato de sódio ou fosfato (MORENO-GARRIDO, 2008).

3.4.2 Microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio

A imobilização de enzimas, células e outros componentes tornou-se um importante ramo da biotecnologia, e tem encontrado terreno fértil no tratamento de efluentes domésticos e industriais. Segundo (YOAV, 2009) a imobilização de microalgas para tratamento de águas residuais é fundamentada no princípio de manter as células vivas dentro de uma matriz em gel metabolicamente ativas o máximo de tempo possível, com mobilidade muito limitada.

Segundo Canilha, (2006), o uso de biocatalizadores imobilizados (enzimas e células) é uma estratégia a ser utilizada para a condução de bioprocessos em várias situações. Aliada à engenharia, bioquímica, microbiologia e genética, esta tecnologia pode ser utilizada como uma ferramenta para aumentar a eficiência de processos biotecnológicos e, conseqüentemente, reduzir custos de produção

Segundo Pradella, (2001) *apud* Silva, (2011), A imobilização consiste na retenção de células ou enzimas em uma estrutura física insolúvel, o que as obriga a permanecerem em uma região particular do bioreator.

Em vários estudos tem sido utilizada a *Chlorella vulgaris* imobilizada em alginato de cálcio e se conseguiu bons resultados.

3.4.3 *Chlorella sp.*

O gênero *Chlorella* é composto por microalgas verdes, unicelulares, que possuem clorofila e realizam fotossíntese, sendo uma das primeiras algas a serem isoladas como uma cultura pura (realizado por Beijerinck na década de 1890). Otto Warburg (1919) introduziu o uso de *Chlorella sp.* nos estudos da fotossíntese, onde as células eram cultivadas numa solução similar a solução Knop's, que era utilizada no cultivo hidropônico de plantas superiores. Essa solução continha $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4 , KH_2PO_4 , KNO_3 (ou KCl) e FeCl_3 diluídos em água da torneira (MARCON, 2005).

As atenções científicas somente se voltaram para o potencial da *Chlorella sp.* no

final de 1940, quando foram cultivadas em meio mineral definido, especificando-se as necessidades ambientais e nutricionais de cada espécie (HSIUAN *et al.*, 2000 *apud* SILVA, 2011).

Segundo Boraas *et al.* (1998) *apud* Silva (2011) a *Chlorella vulgaris* é uma alga verde, eucariótica, autotrófica e unicelular, em condições normais de cultura, tipicamente tem o tamanho aproximadamente de uma hemácia, cerca de 5 e 6 µm de diâmetro.

3.4.4 As algas e sua aplicação no tratamento de águas residuárias

As algas são organismos pertencentes ao reino vegetal que compreendem um grupo muito diverso de organismos fotossintetizadores (SOUTH e HITTICK, 1987). As algas ocorrem, em grande abundância, nos oceanos, nos mares, nos lagos salgados, nos lagos de água doce, nos açudes e nas correntes (RAVEN *et al.*, 1996).

Segundo Marcon (2005) e Borghetti (2009) nas lagoas de estabilização, se verifica a predominância de algas verdes (*Chlorophyta*), destacando-se as microalgas do gênero *Chlorella sp.*, que são microorganismos unicelulares, clorofilados, sem flagelos e com grande habilidade de realizar fotossíntese.

Ainda segundo Marcon (2005) e Dinis *et al.* (2004), as algas desempenham um papel fundamental no funcionamento dos sistemas de lagoas de estabilização, pois elas aumentam a concentração de oxigênio dissolvido através da fotossíntese, que é necessário ao metabolismo das bactérias aeróbias heterotróficas; consomem o dióxido de carbono produzido pela oxidação bacteriana da matéria orgânica, elevando o pH do meio e removem nutrientes da água através de seu metabolismo e crescimento celular.

As atenções científicas somente se voltaram para o potencial da *Chlorella sp.* no final de 1940, quando foram cultivadas em meio mineral definido, especificando-se as necessidades ambientais e nutricionais de cada espécie (HSIUAN *et al.*, 2000).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização do sistema experimental

O trabalho foi desenvolvido na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários (EXTRABES) situada no Bairro do Tambor, numa área pertencente à companhia de Água e Esgotos da Paraíba (CAGEPA), sob responsabilidade da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), na cidade de Campina Grande - PB, com coordenadas geográficas 7° 13'11" S e 35° 52' 31' W, com altitude de 550 m acima do nível do mar.

4.2 Planejamento Experimental

Com o objetivo de observar com melhor precisão o processo de remoção dos nutrientes do efluente sanitário do reator UASB, foi realizado um planejamento experimental constituído por três experimentos a serem realizados entre o início de outubro e começo de novembro. O planejamento experimental fundamentou-se na análise do efluente frente aos parâmetros: pH, Alcalinidade, Nitrato, Nitrogênio amoniacal, Fósforo total e ortofosfato.

4.3 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 0,5 m de profundidade. Foram coletados e centrifugados 100 mL de efluente da lagoa de estabilização. As algas concentradas foram inoculadas em tubos de ensaio pré-esterelizados contendo Meio Basal Bold's (MBB) com 2% de ágar, essas amostras foram mantidas em fotoperíodo de 24 horas, em sala de cultivo com temperatura controlada (27 °C), sob iluminação de lâmpadas fluorescentes de 40 watts. Passadas três semanas, identificaram-se o gênero algal em um microscópio eletrônico invertido da marca Oleman, 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 das microalgas em 100 mL de MBB líquido, o qual foi colocado em uma mesa em erlenmeyers de 250 mL sob iluminação com lâmpadas fluorescentes e homogeneizados manualmente. Após uma semana, 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 aerador Inalar modelo Compact por nove dias. Após esse procedimento o meio de cultivo algal foi inoculado em frascos erlenmeyers de 2000 mL, sendo 1600 mL de MBB líquido para 32 mL de amostra algal.

4.4 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 4 erlenmeyers de 2L, contendo 1600 mL de Meio Basal Bold's cada; Estes foram todos repicados 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 4 erlenmeyes de 2 L com o MBB eram aeradas através de bomba nebulizadora.

Todo o sistema de cultivo era mantido a uma distância de 15 cm de duas lâmpadas fluorescentes instaladas horizontalmente, de acordo como o que é mostrado na Figura 2.

Figura 2 – Meio de Cultivo da *Chlorella sp.* em Meio Basal Bold's.



4.5 Imobilização da *Chlorella sp.*

Ao transcorrer 9 dias de cultivo coletava-se 1L deste material e centrifugava-se a 3000 rpm (FCR = 950 g) por 15 minutos até se obter 100 mL de extrato algal, que era homogeneizado manualmente em 100 ml de alginato de sódio anteriormente preparado. O alginato de sódio era preparado na concentração de 8% para obter esferas a 4%, ou seja, diluía-se 8 gramas de alginato de sódio em 100 mL de água destilada e autoclavava-se a 121°C durante 15 minutos. Em seguida esperava-se esfriar misturava-se os 100 mL de extrato algal na suspensão de alginato de sódio a 8%, a qual era 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 (CaCl_2) a 0,4 M, preparada anteriormente e autoclavada a 121°C por 15 minutos. Ao ser gotejado todo o material, este permanecia sob agitação constante por 30 minutos, para garantir a formação rígida das esferas de alginato de cálcio. Após os trinta minutos as esferas eram lavadas em água destilada abundante, e mantidas imersas na solução de cloreto de cálcio (CaCl_2) em um refrigerador a 4 °C.

4.6 Caracterização física das esferas

Com o intuito de se medir o diâmetro médio, a massa e o volume das esferas (Figura 3), pegou-se 500 mL de esferas as quais foram colocadas em uma bandeja para que através da técnica do quarteamento se retirasse uma amostra representativa que foi de 135 esferas estas representaram um diâmetro médio de 4 mm, massa média de 0,371g e um volume médio aproximado de 33,51 mm³.

Figura 3 – Esferas com algas imobilizadas.



Fonte: Silva, (2011).

4.7 Caracterização dos biorreatores

O sistema experimental consistiu em quatro biorreatores tubulares de vidro pyrex transparente com 54 cm, em escala de laboratório. Cada biorreator com capacidade total de 129,7 mL, tendo em cada um, uma torneira na parte inferior.

Os biorreatores foram preenchidos com 90 mL de esferas contendo microalgas *chlorella sp* imobilizadas em alginato de cálcio a 4%.

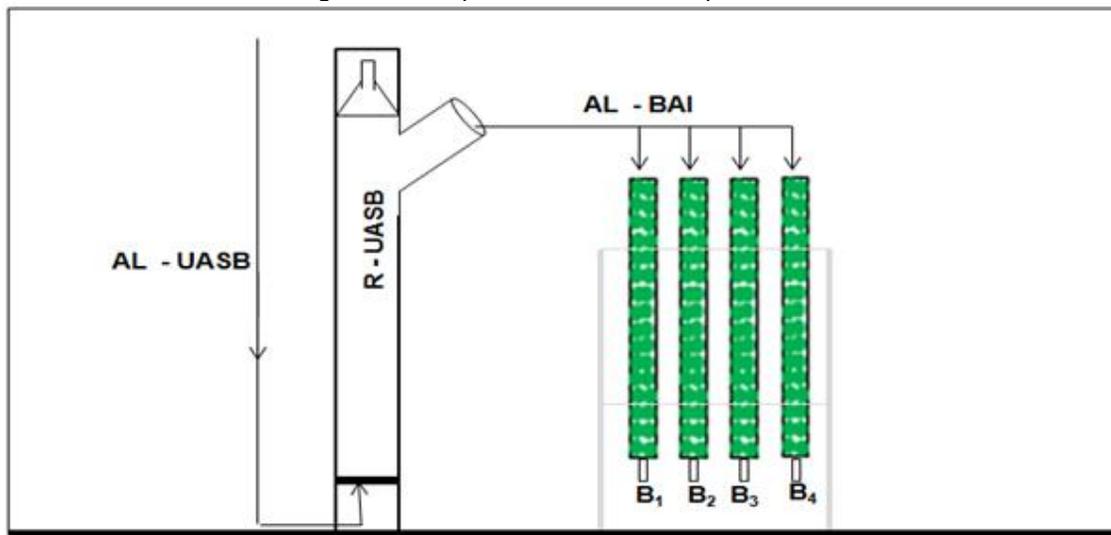
Os biorreatores foram alimentados com efluente secundário de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB). Estes trabalharam em regime de batelada, com tempo de biorreação de 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 horas, ou seja, no tempo 0,0 horas coletou-se uma amostra de 250 mL de efluente do reator UASB e em seguida alimentou-se os quatro biorreatores (B₁, B₂, B₃ e B₄) e após, uma, duas, três e quatro

horas de biorreação coletou-se o efluente. Ao final de cada experimento as esferas eram coletadas e acondicionadas em geladeira a 4 °C.

A iluminação dos biorreatores foi realizada artificialmente, através de 4 (quatro) lâmpadas fluorescentes (uma pra cada biorreator) com intensidade luminosa de aproximadamente $85 \mu\text{E} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, provido por uma lâmpada branca fluorescente de 40 W, a uma distancia de 10 cm.

Os biorreatores eram fixos, em um suporte de alumínio, Figura 2.

Figura 4 – Esquema do sistema experimental.



R – UASB Reator UASB; AL – UASB: Alimentação do UASB; AL – BAI: Alimentação dos biorreatores com microalgas imobilizadas; B₁, B₂, B₃ e B₄: Biorreatores com microalgas imobilizadas.

4.8 Monitoramento dos biorreatores e realização dos experimentos

Os experimentos foram realizados em uma única etapa entre os meses de outubro a novembro de 2011. Primeiramente procedeu-se com o isolamento e cultivo das microalgas para posterior imobilização. Após imobilização das células de algas cultivadas procedeu-se em colocá-las nos biorreatores para realização dos experimentos. Nos experimentos fazia-se a alimentação do efluente, pela parte superior dos biorreatores e separava-se a amostra T₀. Com o passar da primeira hora coletava-se o efluente do primeiro reator B₁. Com o passar da segunda hora coletava-se o efluente do reator B₂, e assim sucessivamente até o reator B₄. Todas as amostras eram

aconditionadas para realização, no mesmo dia, de análise química. Todos os experimentos foram realizados em sala sob temperatura média de aproximadamente 24,5 °C monitorada através de termômetro digital.

Os parâmetros avaliados foram:

- pH das amostras do efluente usando pH metro da marca TECNAL Tec-3MP, Segundo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998);
- Fósforo total e ortofosfato, segundo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998);
- Alcalinidade total, segundo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998);
- Nitrato e nitrogênio amoniacal, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998); e
- Clorofila 'a' no meio de cultivo e nas esferas, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA,1998).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração média de clorofila “a” no meio de cultivo foi de 428,63 $\mu\text{g/mL}$ e pH de 10,75 unidade de pH. O aumento do pH no meio de cultivo era esperado, pois o aumento da concentração celular das microalgas faz com que a atividade fotossintética reduza o teor de CO_2 no meio de cultivo.

Para as esferas de alginato de cálcio com a *Chlorella sp.* imobilizada a concentração média de clorofila “a”, encontrada nas análises, foi de 2,8 $\mu\text{g/esfera}$. Esse fator está diretamente associado com a atividade fotossintética das microalgas.

A Figura 5 ilustra os valores médios de remoções de fósforo total do efluente em função do tempo de detenção hidráulica, nos biorreatores com microalgas imobilizadas. Observa-se que a partir da primeira hora de biorreação houve diminuição nas concentrações de fósforo total, com tempo de detenção hidráulica de uma e quatro horas as remoções foram de 16,46% e 48,38% respectivamente, como mostra a Figura 6.

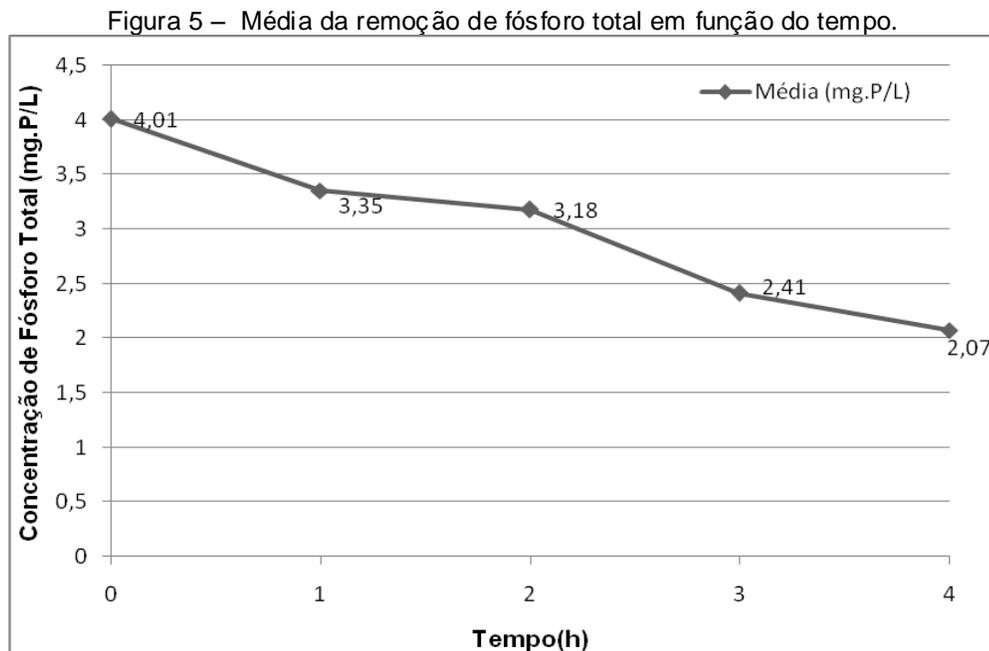
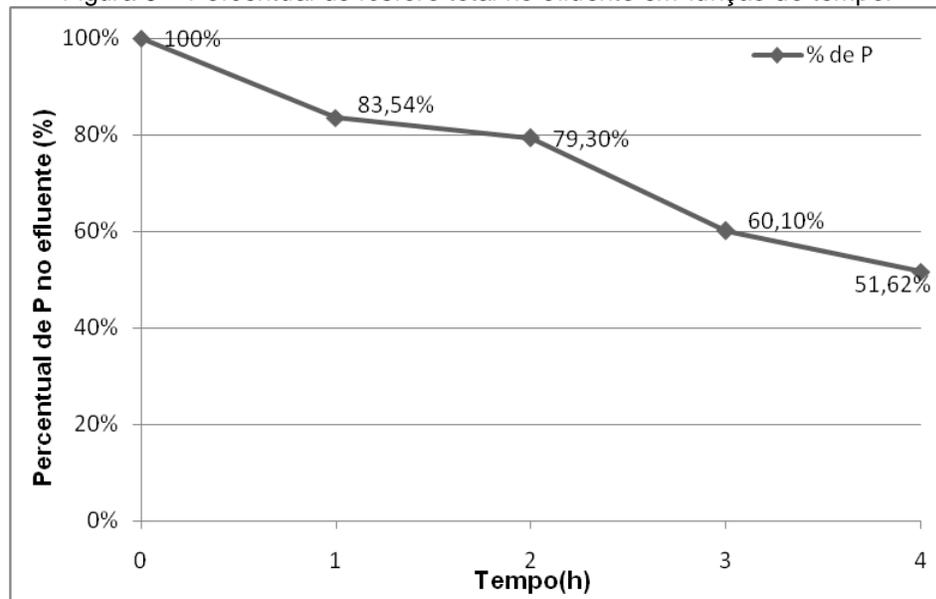


Figura 6 – Percentual de fósforo total no efluente em função do tempo.



Na Figura 7 estão os valores médios do parâmetro ortofosfato, forma diretamente assimilável pelas microalgas, do efluente analisado em função do tempo de detenção hidráulica nos biorreatores com microalgas imobilizadas e do reator UASB. De acordo com a supracitada figura, observa-se que a remoção foi contínua, ao longo do tempo de detenção hidráulica. As máximas eficiências de remoção (54,95% e 60,89%) foram aquelas referentes aos tempos de 3 e 4 horas, como mostra a Figura 8.

Figura 7 – Média da remoção de ortofosfato em função do tempo.

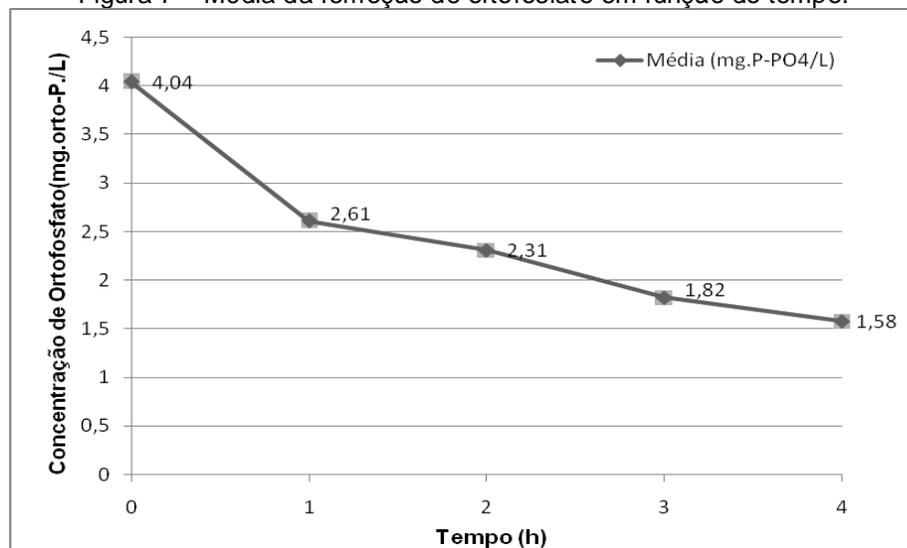
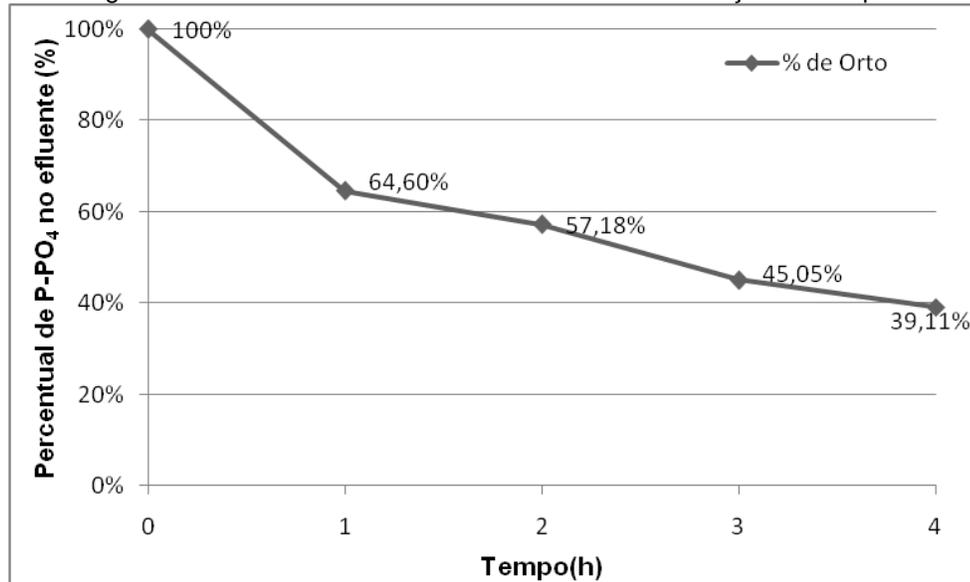


Figura 8 – Percentual de ortofosfato no efluente em função do tempo.



Em conformidade com os resultados de fósforo encontrados nas Figuras 5, 6, 7 e 8, houve remoções de fósforo significativas, porém quando comparados com resultados alcançados em outras pesquisas as eficiências de remoção foram baixas, pois utilizando-se microalgas *chlorella sp.* imobilizada na mesma matriz e tratando efluente de tanque séptico Silva (2011) obteve remoções de 71,43% de fósforo total com 4 horas de biorreação e 82,71% de ortofosfato após 3 horas. Nas Tabelas 1 e 2 estão representados respectivamente os valores médios das concentrações de fósforo total e ortofosfato para cada tempo de contato obtidos nos experimentos.

Tabela 1 – Médias das concentrações de fósforo total para cada tempo de contato nos experimentos.

Experimento	Tempo(h)				
	0	1	2	3	4
1	4,84	4,10	4,40	3,83	2,83
2	3,85	2,99	2,69	1,55	1,53
3	3,36	2,97	2,46	1,87	1,85
Média (mg/L)	4,01	3,35	3,18	2,41	2,07

Tabela 2 – Médias das concentrações de ortofosfato em cada tempo de contato obtidas nos experimentos.

Experimento	Tempo(h)				
	0	1	2	3	4
1	4,83	2,66	2,56	2,39	1,94
2	3,77	2,61	2,35	1,52	1,24
3	3,52	2,57	2,03	1,56	1,56
Média (mg/L)	4,04	2,61	2,31	1,82	1,58

Os valores médios de nitrogênio amoniacal dos efluentes analisados, estão representados na Figura 9. Sabe-se que as microalgas além de absorverem o nitrogênio amoniacal para sua síntese protéica, atuam conjuntamente com as bactérias nitrificantes fornecendo-lhes oxigênio para conversão da amônia (N-NH_4) a nitrito (N-NO_2^-) e posteriormente a nitrato (N-NO_3^-), é esse mecanismo biológico que garante a reciclagem do nitrogênio. As remoções de nitrogênio amoniacal alcançadas foram de 52,15% na primeira hora de contato e de 55,52% ao final de 4 horas de biorreação, como fica evidenciado na Figura 10.

Figura 9 – Média da remoção de nitrogênio amoniacal em função do tempo.

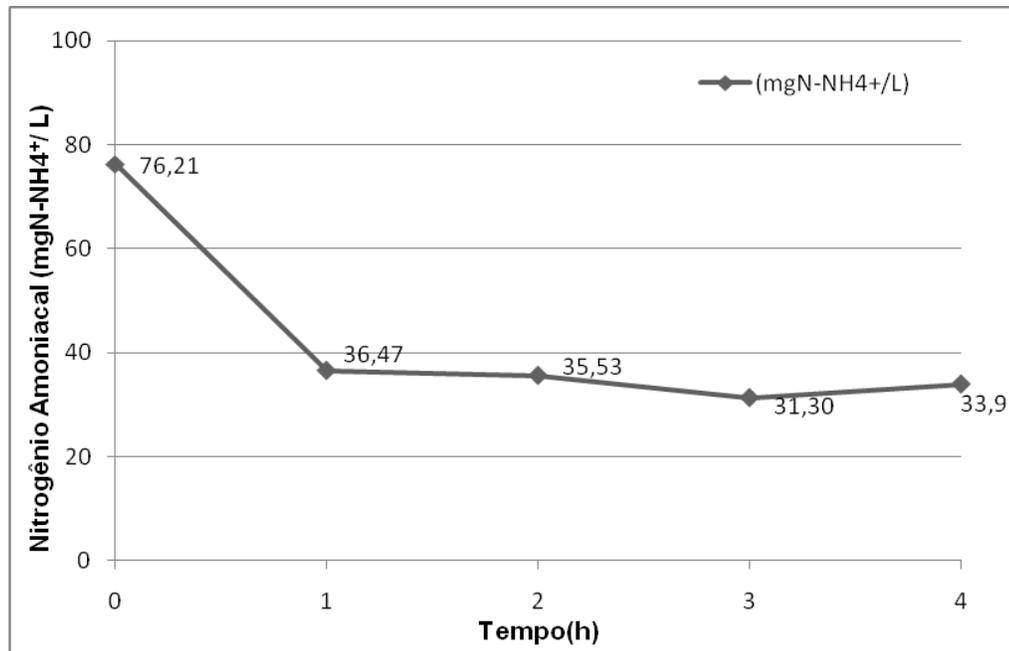
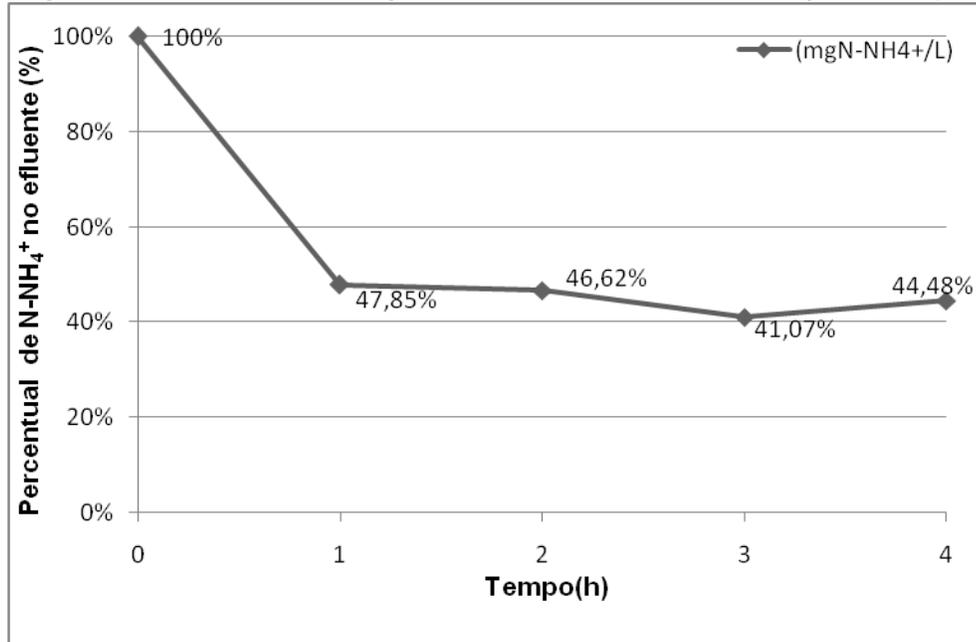


Figura 10 – Percentual de nitrogênio amoniacal no efluente em função do tempo.

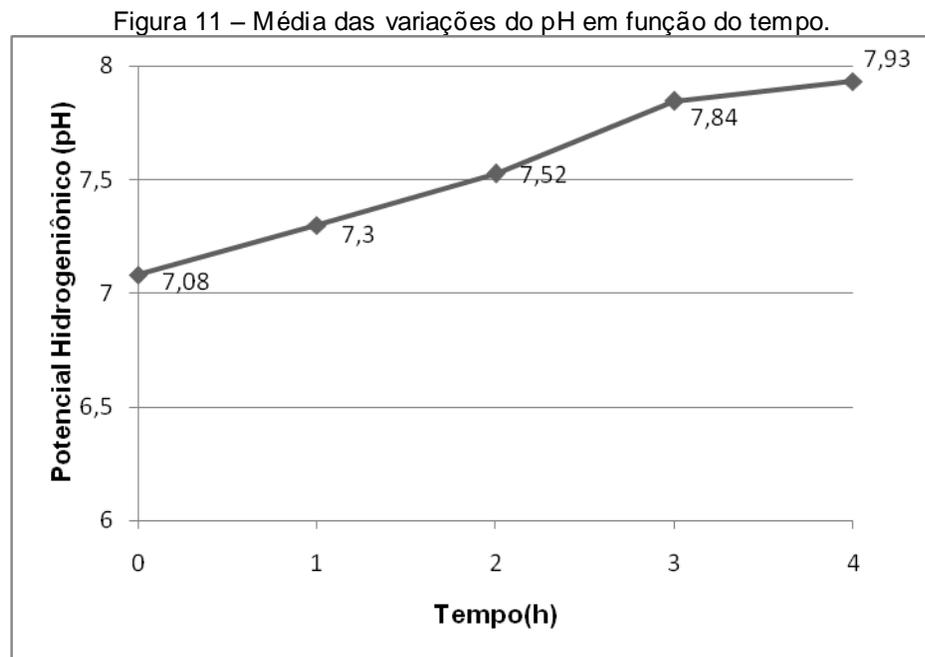


Embora o percentual de remoção alcançado tenha sido considerável, Melo e Lima (2000) em seu estudo com tabuleiros irrigados conseguiram uma maior remoção, cerca de 78%. No estudo em questão a redução do nitrogênio amoniacal não necessariamente está relacionada a apenas a incorporação pelas microalgas ela pode estar associada a conversão da mesma a nitrito pelas bactérias nitrificantes. Esse consumo e/ou conversão pode ser melhor observado conforme a Tabela 3, que mostra as médias das concentrações de nitrogênio amoniacal nos experimentos para cada tempo de contato.

Tabela 3 – Médias das concentrações de nitrogênio amoniacal em cada tempo de contato obtidas nos experimentos

Experimento	Tempo(h)				
	0	1	2	3	4
1	79,95	35,07	29,45	26,65	32,26
2	64,52	35,07	39,27	32,26	30,86
3	84,16	39,28	37,87	35,07	38,57
Média (mg/L)	76,21	36,47	35,53	31,3	33,9

O pH se caracteriza como fator de grande relevância, pois é através do monitoramento do mesmo que se sabe se o sistema está funcionando corretamente, na presente pesquisa a média do pH variou de 7,08 a 7,93, ou seja houve um incremento médio de aproximadamente 0,85 unidade de pH ao longo do tempo de detenção hidráulica, evidenciando a atividade fotossintética das microalgas, como ilustra a Figura 11.

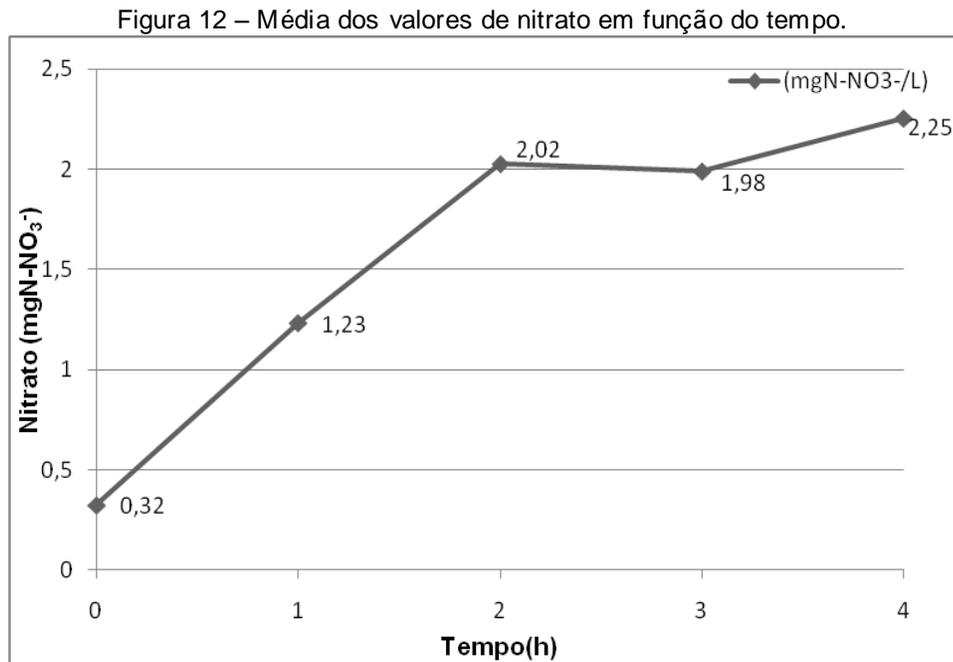


Para melhor visualizar essa variação a Tabela 4 mostra as médias dos valores de pH obtidos em cada tempo de contato nos experimentos, evidenciando o seu aumento gradativo em função do tempo.

Tabela 4 – Médias dos valores de pH do efluente em cada tempo de contato.

Experimento	Tempo(h)				
	0	1	2	3	4
1	6,94	6,97	6,94	7,04	7,14
2	7,36	7,66	7,90	8,26	8,29
3	6,94	7,27	7,74	8,24	8,37
Média	7,08	7,30	7,52	7,84	7,93

Na Figura 12 encontra-se os valores médios do parâmetro nitrato em função do tempo de biorreação. É observado que houve um aumento na concentração de nitrato ao longo do tempo. Com 2 e 4 horas de biorreação o incremento de nitrato foi de aproximadamente 1,7 mg/L e 1,93 mg/L, respectivamente, de nitrato no efluente. Uma provável explicação para esse fenômeno é a nitrificação do efluente através das bactérias nitrificantes (*Nitrossomonas* e *Nitrobacter*), que provavelmente tenham utilizado o oxigênio produzido pelas microalgas através do processo fotossintético, visto que o afluente utilizado no experimento era de processo anaeróbico (reator UASB), não nitrificado.



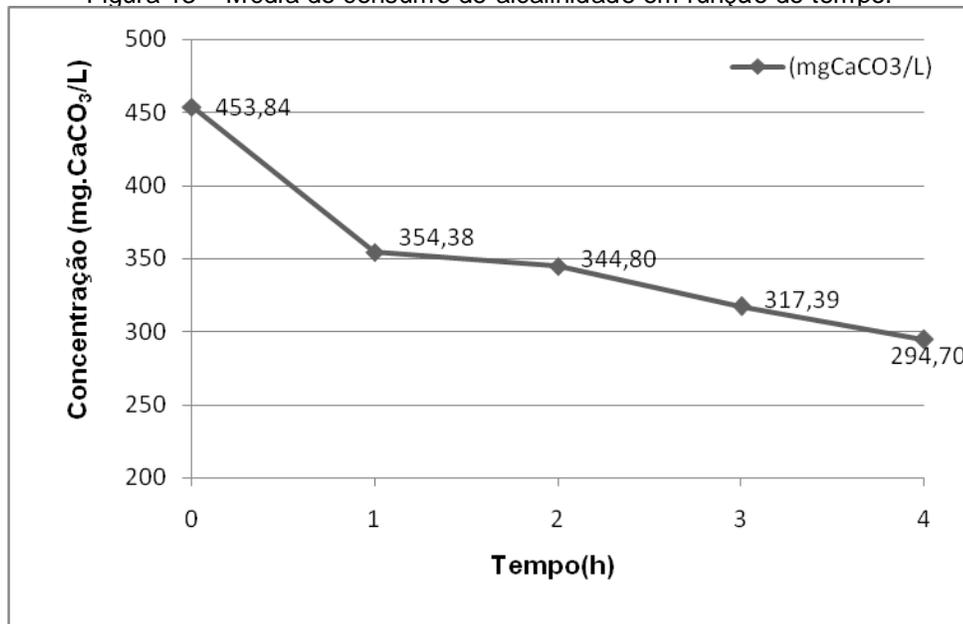
No entanto, essas concentrações de nitrato representam uma pequena parcela da quantidade de amônia consumida, mostrando que parte da amônia foi absorvida pelas microalgas e/ou transformada em nitrito (NO₂⁻). Os valores médios das concentrações de nitrato (NO₃⁻) obtidos nos experimentos para cada tempo de contato são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Médias das concentrações de nitrato em cada tempo de contato

Experimento	Tempo(h)				
	0	1	2	3	4
1	0,28	1,48	1,77	1,13	1,77
2	0,34	1,02	1,95	2,27	1,87
3	0,34	1,19	2,35	2,55	3,11
Média (mg/L)	0,32	1,23	2,02	1,98	2,25

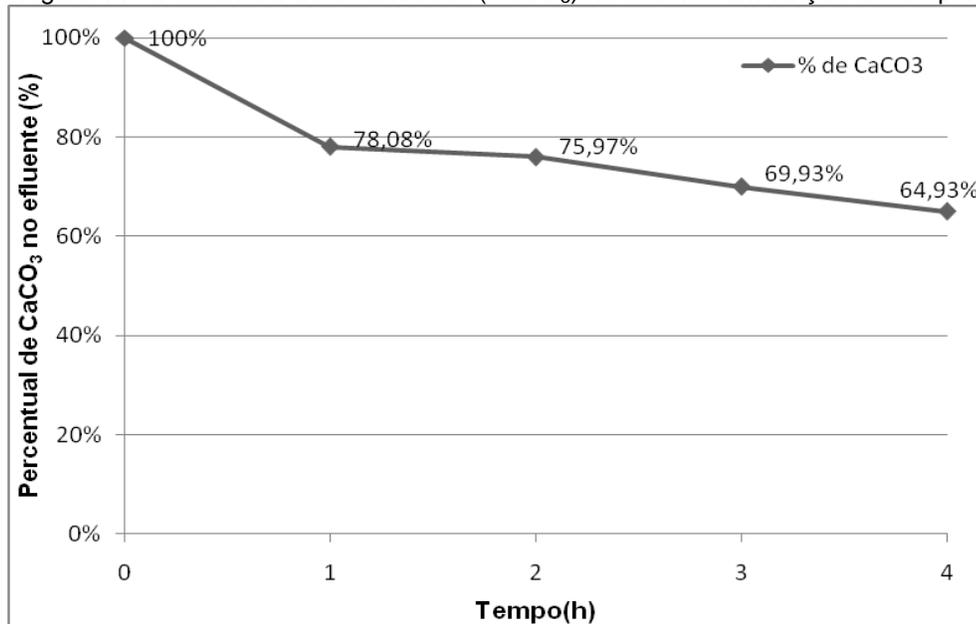
Na Figura 13 é apresentado os valores médios de alcalinidade total. Se observa que ocorreu um consumo da alcalinidade em função do tempo. Isto pode ser explicado pela a nitrificação do efluente apresentada na Figura 12, pois segundo Souza (2011) na nitrificação ocorre um consumo de alcalinidade, na qual uma pequena parte é incorporada no material celular das bactérias e a maior parte é utilizada para neutralizar os íons de hidrogênio liberados durante a oxidação. Porém, segundo o mesmo autor o inverso ocorre na desnitrificação, pois cada 14 g de nitrogênio reduzido produz-se 50 g de alcalinidade na forma de CaCO_3 .

Figura 13 – Média do consumo de alcalinidade em função do tempo.



Esse consumo em termos percentuais atingiu 21,92% ao final de 1 h, e 35,07% ao final de 4 h, como é mostrado na Figura 14.

Figura 14 – Percentual de alcalinidade (CaCO_3) no efluente em função do tempo.



As microalgas mostram-se eficazes na remoção de nutrientes. Uma provável explicação para as remoções de fósforo e nitrogênio no efluente é a da assimilação destes constituintes pelas microalgas, através do seu processo fotossintético, pois segundo von Sperlin (2009) estes organismos consomem nutrientes. Em termos de nitrificação (Figura 12), uma possível explicação para tal fenômeno é o fornecimento de O_2 pelas microalgas para as bactérias nitrificantes (nitrossomonas e nitrobacter), através da fotossíntese realizada por elas.

6 CONCLUSÕES

A eficiência de remoção de nutrientes de esgoto sanitário de reator UASB, que a microalga *Chlorella sp.* imobilizada em matriz de alginato de cálcio alcançou foi de 55,52% de nitrogênio amoniacal; 48,44 e 60,89% de fósforo total e ortofosfato, respectivamente para tempo de detenção hidráulica de 4 horas. Tais resultados não foram equivalentes aos alcançados em estudos anteriores, porém, apresentaram remoções de nutrientes significativas que demonstram o potencial do uso de microalgas imobilizadas no tratamento de águas residuárias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA. AWWA. WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 15.ed. Washington, DC. American Public Health Association. American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 1998.

BRAGA, B.; Hespanhol, I.; Conejo, J. G. L.; Mierzwa, J. C.; Barros, M. T. L.; Spencer. M.; Porto, M.; Nucci, N.; Juliano, N.; Eiger, S. **Introdução à Engenharia Ambiental**. 2ª ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, p. 318, 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução Nº. 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe Sobre a Classificação dos Corpos de Água e Diretrizes Ambientais para o seu Enquadramento, bem como estabelece as Condições e Padrões de Lançamento de Efluentes. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em 15 de fevereiro de 2011.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução Nº. 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as Condições e Padrões de Lançamento de Efluentes, complementa e altera a Resolução Nº. 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional de Meio Ambiente- CONAMA. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em 21 de novembro de 2011.

BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E. **Biotechnologia Industrial: Fundamentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 1, p. 5-8.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; SILVA, J. B. A. **Biocatalizadores imobilizados: uso de células e enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos**. *Biotechnologia Ciências e Desenvolvimento*. n. 36, p. 48 – 57, Janeiro/junho, 2006.

COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R.F.H.; SILVA, R. **Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas**. *Semana: Ciências Exatas e Tecnológicas*, n. 2, p. 143 – 160. Londrina, jul./dez., 2007.

GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U. & SILVA, A. N. **Alginato Bacteriano: Aspectos Tecnológicos, Características e Produção**. *Química Nova*, vol. 31, nº. 7, p. 1800 – 1806, 2008.

HSIUAN-LIN, W.; RUEY-SHYANG, H.; LIANG-PING, L.; **Identification of *Chlorella* spp. Isolates using ribosomal DNA sequences**, *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 2001, 42:115-121.

MARCON, A. E. **Remoção de coliformes fecais com microalgas (*Chlorella*) imobilizadas em matriz de Alginato de cálcio**. 2005. 62f. Dissertação (Mestrado para obtenção do título de Mestre em Engenharia Sanitária) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN.

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

MEGHARAJ, M.; PEARSON, H. W.; VENKATESWARLU, K. **Removal of nitrogen and phosphorus by immobilized cells of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus bijugatus* isolated from soil.** Enzyme, Microbiology and Technology, vol. 14, 1992, p.656-658.

Melo, J. L. S.; Silva, F. D.; Lima, A. M. **Avaliação da remoção de nitrogênio orgânico e amoniacal em amostras de esgoto doméstico Submetido a pós-tratamento em tabuleiros irrigados.** XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química e XIX Interamerican Congress of engineering. Natal - RN, 2000.

Pearson, H. W.; Marcon, A. E.; Melo, H. N. **The removal of thermo-tolerant coliform bacteria by immobilized waste stabilization pond algae.** Water Science & Technology. P. 1271 – 1275, 2011.

Pellegrini, J. B. R. Fósforo na água e no sedimento na microbacia hidrográfica do Arroio Lino- Agudo- RS. 2005. 85.f. Dissertação (Mestre em Ciência do Solo – área de Processos Químicos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS).

RAVEN, P. R.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal.** 5. Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

RODRIGUES, J. B. R. & FILHO, P. B. **Eficiência da Microalga *Chlorella minutissima* no Tratamento de Resíduos de Suinocultura Enriquecido com Uréia.** Biotemas, v. 17, nº.2, p. 7 – 26, 2004.

RODRIGUES, H. D. P. **Potencial biossortivo e biodegradativo das células de “*saccharomyces cerevisiae*” livres e imobilizadas em alginato de cálcio na remoção de corantes têxteis.** 2010. 89.f. Dissertação (Mestre em Ciências Biológicas - área de Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, São Paulo.

SILVA, S. A. P. **Biorremediação em águas residuais: Remoção de fósforo utilizando microalga *Chlorella vulgaris* imobilizadas em meio de alginato de sódio.** 2007. 72.f. Dissertação (Mestre em Hidrobiologia) – Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Portugal.

SOUTH, G.R.; HITTICK, A. **Introduction to Phycology.** Oxford: Blackwell Scientific, p. 341, 1987.

Silva, M. C. C. P. **Tratamento terciário de efluente secundário, usando a microalga *chlorella sp.* Imobilizada em matriz de alginato de cálcio.** 2011. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande/PB.

Silva, S. A. P. **Biorremediação em águas residuais: remoção de fosfatos utilizando microalgas *chlorella vulgaris* imobilizadas em meio de alginato de sódio.** 2007. 71 f. Dissertação (Mestrado em Hidrobiologia) – faculdade e Ciências da Universidade do Porto.

SOUZA, T. S. **Desnitrificação Autotrófica Usando Sulfeto Como Doador de Elétrons para remoção de Nitrogênio de Efluentes de Reatores Anaeróbios Utilizados no Tratamento de Esgotos Sanitários.** 2011. 167f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

von Sperling, M.; Neto, C. O. A.; Júnior, I. V.; Florêncio, L. **Impacto dos Nutrientes do Esgoto Lançado em Corpos de Água.** In: Mota, F. S. B. & Von Sperling, Marcos (coord.). PROSAB. 1ª ed. ABES, Rio de Janeiro/RJ, P. 26 – 51, 2009.

YOAV, L. E. B. **Microalgas imobilizadas para a remoção de poluentes: Revisão dos aspectos práticos.** Grupo Ambientalista Microbiologia, Centro de Pesquisas Biológicas do Noroeste, 2009.