

POTENCIAL DE REMOÇÃO DE FÓSFORO EM BIORREATOR OPERADO COM CÉLULAS DE *Chlorella* sp IMOBILIZADAS EM MATRIZ DE ALGINATO DE CÁLCIO

POTENTIAL OF PHOSPHORUS REMOVAL IN BIOREACTOR OPERATED WITH CELLS OF *Chlorella* sp IMMOBILIZED IN ALGINATE CALCIUM MATRIX

Narcísio Cabral de Araújo¹, José Tavares de Sousa², Valderi Duarte Leite³, Maria Célia Cavalcante de Paula e Silva⁴

¹Doutor em Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Sul da Bahia, BA. E-mail: narcisioaraujo@gmail.com

²Doutor em Hidráulica e Saneamento, Universidade Estadual da Paraíba, PB. E-mail: jtdes@uol.com.br

³Doutor em Hidráulica e Saneamento, Universidade Estadual da Paraíba, PB. E-mail: valderileite@uol.com.br

⁴Mestre em Ciências e Tecnologia Ambiental, Campina Grande, PB. E-mail: romulo-celia@hotmail.com.

RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a remoção do fósforo presente em efluente secundário por meio da ação de células da microalga *Chlorella* sp immobilizadas em matriz de alginato de cálcio. Para tanto, as células, previamente cultivadas em Meio *Basal Bold* (MBB) e submetidas a procedimentos de imobilização, foram colocadas em biorreator tubular operado sob condições de fluxo ascendente do resíduo líquido. Foram realizadas duas etapas experimentais, cada uma composta por cinco ensaios em ambiente com temperatura controlada a 27 °C e iluminação artificial pelo emprego de duas lâmpadas fluorescentes de 40 Watts. As etapas se diferenciaram pelo uso ou não de recirculação do efluente durante os períodos experimentais. Os regimes de alimentação foram em batelada intermitente, com tempo de reação de uma a cinco horas. Os resultados alcançados mostram a eficiência de 88% e 95% de remoção de fósforo, respectivamente, para o sistema quando operado sem e com recirculação do efluente.

Palavras-chave: Tratamento biológico, águas residuárias, remoção de nutrientes, microalgas.

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the removal of this phosphorus in secondary effluent through microalgae cells action *Chlorella* sp, immobilized in calcium alginate matrix. The both cells, previously grown in Bold and subjected to the immobilization procedures, were placed in a tubular bioreactor operated under upward flow conditions of the liquid residue. Two experimental steps were performed, each one consisting of five tests in a temperature controlled environment at 27 °C and artificial lighting by using two fluorescent bulbs of 40 Watts. The steps are differentiated by the use or not of effluent recirculation during the experimental periods. Feeding regimens were intermittent batch with reaction time from one to five hours. The results show the efficiency of 88% and 95% phosphorus removal, respectively, for the system when operated with and without recirculation of the effluent.

Keywords: biological treatment, wastewater nutrient removal, microalgae.

1 – INTRODUÇÃO

A prática de coleta, transporte e destinação final de águas residuárias de origem doméstica e industrial sem tratamento causa diversos danos à saúde pública e aos recursos naturais. O lançamento de efluentes no solo ou em corpos d'água é uma das principais causas da poluição ambiental e degradação dos recursos hídricos. Com o propósito de minimizar esses impactos, podem ser aplicadas diferentes formas de tratamento de águas residuárias; como o tratamento biológico que emprega microrganismos comuns e presentes no solo e na água, os quais são responsáveis pela degradação e transformação de compostos orgânicos e inorgânicos (MARCON, 2005).

Entre os processos biológicos mediados por microrganismos encontram-se as lagoas de estabilização, particularmente adotadas como solução para tratamento dos esgotos sanitários. Segundo von Sperling (2009), além da estabilização da matéria orgânica, a remoção biológica de nutrientes é fundamental em processos de tratamento de

águas residuárias de origem doméstica, especialmente do fósforo. Assim, utilizando-se sistemas com predominância de algas (microalgas) como as lagoas de estabilização, a redução do nutriente no efluente pode ocorrer pela ação dos microrganismos que o consomem, por sua sedimentação nos sólidos formados e pela precipitação de fosfatos sob condições de elevado pH no meio de reação.

As algas são organismos pertencentes a um amplo e diverso grupo de células eucarióticas que contém clorofila e realizam fotossíntese. Ocorrem em grande abundância nos oceanos e mares, bem como nas águas continentais, tais como rios e lagos (SOUTH; HITTICK, 1987; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 1996).

De acordo com Marcon (2005) e Borghetti (2009), nas lagoas de estabilização, existe predominância de algas verdes *Chlorophyta*, com destaque para microalgas do gênero *Chlorella* sp – microrganismos unicelulares, clorofilados, sem flagelos e com grande habilidade para realizar fotossíntese. Nesses sistemas, o metabolismo microbiano que resulta na degradação e transformação de

compostos, integra produção de oxigênio pelas algas e seu consumo pelas bactérias heterotróficas. Por sua vez, o dióxido de carbono resultante da oxidação bacteriana da matéria orgânica é consumido pelas algas para realização da fotossíntese, e o crescimento celular possibilita a remoção de nutrientes do meio (MARCON, 2005; DINIS; MONTEIRO; BOAVENTURA, 2004).

A imobilização de células ou enzimas representa um avanço tecnológico para o aprimoramento de bioprocessos, uma vez que os biocatalisadores imobilizados podem ficar retidos para serem reutilizados por tempo indefinido (CANILHA; CARVALHO; SILVA, 2006), além de poder conferir um maior controle dos processos. 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. As artificiais são aquelas que incluem a encapsulação em matrizes como alginato de cálcio ou uso de agentes ligantes, nos quais as células são unidas às matrizes por ligações covalentes, tais como glutaraldeído ou carbodiimida. Os mesmos autores citam os seguintes tipos de imobilização celular: adsorção, ligação eletrostática e covalente, aprisionamento 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 ficam retidas dentro de esferas poliméricas semipermeáveis, com as células uniformemente distribuídas (RODRIGUES, 2010). O método de aprisionamento está baseado na inclusão artificial das células, as quais ficam inseridas em uma malha rígida ou semirrígida, que impede sua difusão para o meio de cultivo (COVIZZI *et al.*, 2007).

Entre os materiais empregados para a imobilização celular artificial, Silva (2007) cita: acrilamidas, copolímeros, agarose, alginato, gelatina, goma, carragena, poliuretano e gel de álcool polivinílico. Nenhuma dessas matrizes são tóxicas aos microrganismos, possibilitando seu crescimento normal no sistema de reação, bem como a liberação de gases e líquidos para o meio.

Rodrigues (2010) e Silva (2007) reafirmam que o alginato é o componente mais usado para a imobilização de células. O alginato é extraído de espécies de algas marinhas marrons (*Phaeophyta*), está presente na estrutura da parede celular e espaços intracelulares dessas algas, conferindo rigidez e ao mesmo tempo flexibilidade à parede celular; constitui cerca de 40% da matéria seca destes organismos (GARCIA-CRUZ; FOGGETTI; SILVA, 2008).

Considerando o potencial de reação de células imobilizadas para obtenção de resultados em vários campos da ciência e o uso de microalgas no saneamento básico e ambiental, este estudo teve como objetivo avaliar a resposta de remoção de fósforo de esgoto sanitário, pré-tratado, por microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio acondicionadas em biorreator operado sob iluminação controlada e alimentação por fluxo ascendente, com e sem recirculação do efluente no meio de reação.

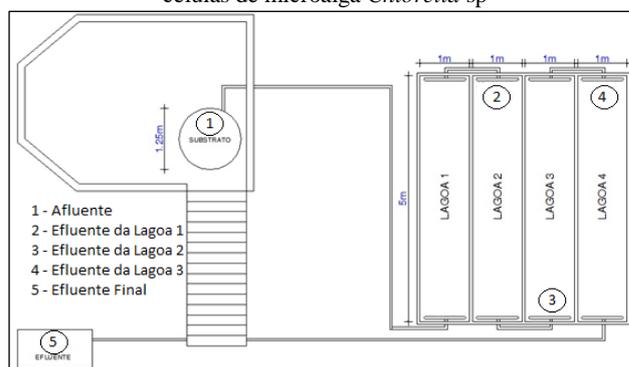
2 – METODOLOGIA

O sistema experimental foi instalado na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários – EXTRABES, localizada no Bairro do Tambor na cidade de Campina Grande, estado da Paraíba, nordeste do Brasil, com coordenadas geográficas de 7° 13' 50" S e 35° 52' 52" W e 551 m de altitude. A sequência de atividades realizadas para alcançar o objetivo desta pesquisa está descrita a seguir.

2.1 Cultivo e imobilização das células de *Chlorella* sp

Os experimentos foram conduzidos com a microalga *Chlorella* sp isolada em amostra de efluente de uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) composta por uma série de quatro lagoas de estabilização instalada na EXTRABES (Figura 1).

Figura 1 – Esquema da ETE na qual foram coletadas as células de microalga *Chlorella* sp



Fonte: Lima (2010).

Na lagoa 4, uma amostra de 100 mL do efluente foi coletado e centrifugado. Alíquotas da amostra foram subcultivadas em Meio Basal Bold (MBB) com ágar 2%, em placas de Petri. A incubação das placas foi realizada sob temperatura controlada a 27 °C e de iluminação com lâmpadas fluorescentes de 40 watts (fotoperíodo de 24 h). Após vinte e um dias de incubação, as células obtidas foram identificadas por microscopia.

Em sequência procederam-se os subcultivos das células em tubos de ensaio com MBB com ágar 2%, previamente esterilizado. Novamente, após vinte e um dias de incubação, sob as mesmas condições, anteriormente descritas, amostras foram coletadas e subcultivadas em frascos *erlenmeyers* de 250 mL contendo 100 mL de MBB líquido, previamente esterilizado. Os frascos foram dispostos em mesa rotatória (80 rev.min⁻¹) e mantidos sob as mesmas condições de controle.

Após o intervalo de três semanas, para ocorrência do crescimento celular, o meio de cultivo foi centrifugado e um volume de 10 mL do concentrado de células foi inoculado em 500 mL de MBB, em *erlenmeyers* de 2.000 mL. A incubação ocorreu nas condições de controle, em câmaras com sistemas de aeração artificial realizada por um aerador Inalar modelo Compact.

O sistema de cultivo foi composto por 4 (quatro) *erlenmeyers* de 2.000 mL, contendo 1.600 mL de MBB

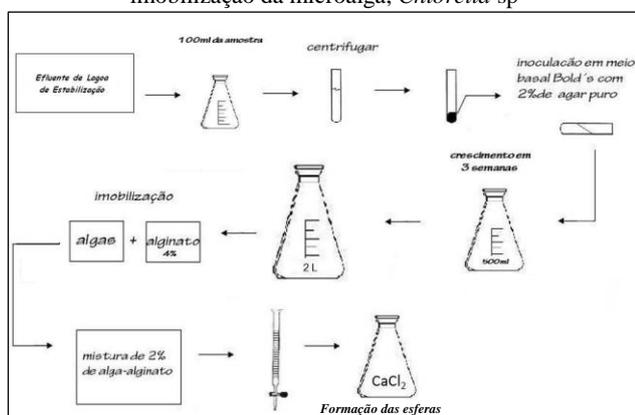
inoculados com volumes de cultivos de *Chlorella sp* na relação 2 mL de cultivo para 100 mL de MBB (Figura 2), previamente preparado e esterilizado em autoclave.

Figura 2 – Ilustração do sistema de cultivo das microalgas utilizado na pesquisa



As etapas para a imobilização de células foram assim conduzidas: após incubação de 7 dias sob condições controladas, amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 15 minutos; o alginato de sódio foi preparado na concentração de 8% e esterilização em autoclave por 15 minutos a 121 °C; procedeu-se à homogeneização manual do concentrado de algas na suspensão com alginato de sódio (1:1 v/v – alginato de sódio/concentrado de algas); o homogeneizado com as células no alginato foram, então, vertidos em uma bureta de 50 mL; procedeu-se ao gotejamento do homogeneizado em uma solução de cloreto de cálcio a 0,4 M contida em um béquer de 1.000 mL sob agitação constante (agitador magnético); esferas de gel com concentração de 4% de alginato de cálcio, com as células de *Chlorella sp* foram, então, formadas. Todos os procedimentos acima estão ilustrados no esquema da Figura 3.

Figura 3 – Esquema ilustrativo do isolamento, cultivo e imobilização da microalga, *Chlorella sp*



Fonte: Silva (2011).

Foram realizadas aferições em amostras de 50 esferas as quais apresentaram diâmetro médio de 4 mm, massa média de 0,371 g e volume de 33,51 mm³.

Na Figura 4 são ilustradas as esferas de alginato de cálcio com as microalgas *Chlorella sp* imobilizadas.

Figura 4 – Esferas de alginato de cálcio com microalgas, *Chlorella sp* imobilizada



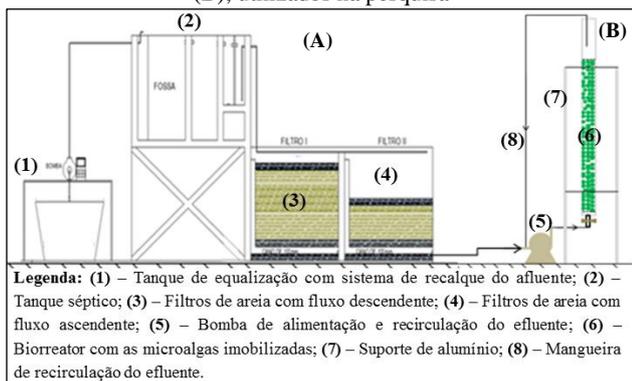
2.2 Experimentos no biorreator

Um biorreator foi construído em formato cilíndrico, de vidro *pyrex* transparente, com 1,5 m de comprimento, 3 mm de espessura por 30 mm de diâmetro interno e volume total de 1.059,75 mL. O biorreator foi preenchido com 500 mL, 9.014,2 esferas, contendo as células imobilizadas, que foram substituídas a cada três ensaios. A alimentação foi realizada com efluente sanitário pré-tratado em tanque séptico seguido por dois filtros de areia operados em regime de batelada intermitente e com fluxo descendente e ascendente, respectivamente (Figura 5).

Foram conduzidos cinco ensaios para cada condição experimental (com ou sem recirculação e tempos de contato de 1 a 5 h), e alimentação por fluxo ascendente, sob temperatura controlada a 27 °C e iluminação artificial a partir de duas lâmpadas fluorescentes de 40 Watts. A principal diferença entre os conjuntos experimentais foi recircular ou não o efluente do sistema de reação. Portanto, na saída do filtro de areia, com fluxo descendente (Filtro 2, ver Figura 5), coletava-se 1,0 L do efluente e com auxílio de uma bomba de pulso realizava-se a alimentação do reator com 500 mL do efluente.

Nos ensaios sem recirculação, após alimentação, desligava-se a bomba, fechava-se o registro e a cada hora de biorreação coletava-se uma alíquota de 40 mL, para posterior análise. Nos ensaios com recirculação do efluente no biorreator, a bomba de pulso injetava o efluente, a cada pulso recebido (o tempo entre um pulso e outro foi de 0,5 segundos), por meio de uma mangueira de silicone instalada na parte superior do biorreator e conectada na entrada da bomba. A cada hora desligava-se a bomba e coletava-se uma alíquota de 40 mL, para posterior análise. Imediatamente ligou-se a bomba e repetiu-se o mesmo procedimento, até atingir o máximo tempo de biorreação, que foi de 5 horas.

Figura 5 – Esquema do sistema utilizado no pré-tratamento do esgoto sanitário utilizado como efluente de alimentação do biorreator (A) e biorreator com esferas de microalga imobilizada (B), utilizados na pesquisa



Após o término de cada ensaio esvaziavam-se o biorreator e completava o volume de vazios com água destilada, para que as esferas ficassem em repouso até o próximo ensaio.

2.3 Parâmetros analisados

No sistema de cultivo e nas esferas de alginato de cálcio, com microalgas imobilizada, foram analisados os teores de clorofila ‘a’.

Nas amostras dos efluentes foram determinados os valores do potencial hidrogeniônico (pH), fósforo total (P_{tot}) e ortofosfato (P). De posse dos dados de fósforo total calculou-se as eficiências de remoção.

As análises foram realizadas em triplicata e seguiram a metodologia preconizada no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998).

2.4 Tratamento dos dados

Os resultados das variáveis estudadas foram submetidos, pelo o *software* ASSISTAT v. 7.7 Beta, a análise de variância com as médias comparadas pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção são apresentados e discutidos os resultados das concentrações de clorofila ‘a’ no cultivo e esferas de alginato de cálcio e as concentrações e eficiência de remoção de fósforo nos ensaios sem e com recirculação do efluente nos biorreatores.

3.1 Células imobilizadas

Durante o período de realização dos experimentos foram realizados oito cultivo das microalgas que apresentaram concentração média de clorofila ‘a’ de $431,9 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Nas esferas a concentração média de clorofila ‘a’ foi de $5,94 \mu\text{g esferas}^{-1}$. Esse valor foi um pouco superior ao encontrado na literatura, pois Marcon (2005) ao imobilizar a microalga *Chlorella* sp em matriz de alginato de cálcio encontrou concentração média de $3,7 \mu\text{g esfera}^{-1}$ de clorofila ‘a’.

3.2 Concentrações de fósforo e eficiências de remoção sem recirculação do efluente

Os resultados das médias dos parâmetros analisados nos experimentos sem recirculação do efluente estão apresentados na Tabela 1. A análise de variância indicou que houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para todos os parâmetros analisados em função do tempo de reação.

As médias de todos os parâmetros analisados também apresentaram diferença estatística entre si.

Para o pH, só não houve diferença entre as médias referentes ao período entre 1 e 2 horas de reação. A máxima média foi de 8,54 obtida com 5 horas de reação. De acordo com a Tabela 1, observa-se que os pH das amostras, após os tempos de reação, foram todos superiores ao verificado no efluente de alimentação.

Todas as médias de fósforo total e ortofosfato apresentaram diferença significativa entre si. As mínimas médias de concentração de fósforo total e ortofosfato foram de $0,79$ e $0,50 \text{ mgP L}^{-1}$, respectivamente, obtidas com 5 horas de reação.

Tabela 1 – Médias do potencial hidrogeniônico (pH), fósforo total (P_{tot}) e ortofosfato (P) do efluente utilizado na alimentação (0 h) e coletados no biorreator após os tempos de 1 a 5 horas de reação sem recirculação do efluente

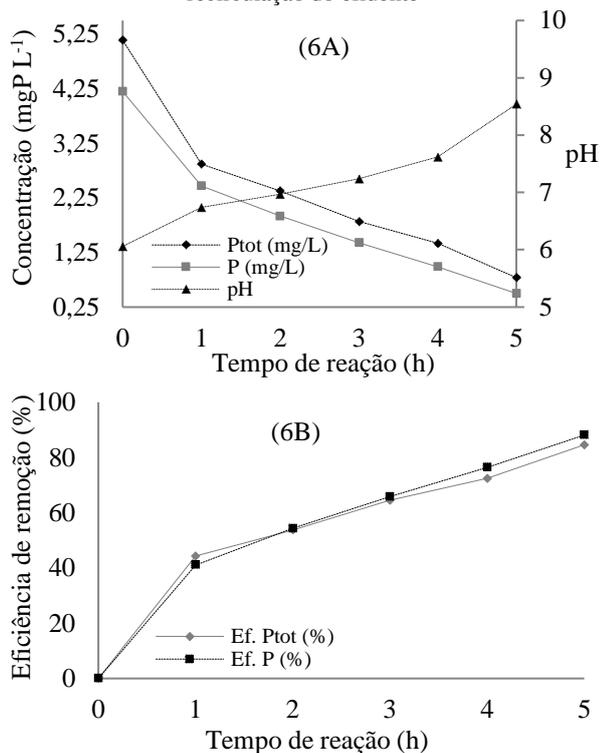
Tempo de reação (h)	Parâmetros		
	pH	P_{tot} (mgP L^{-1})	P (mgP L^{-1})
0	6,06e	5,14a	4,20a
1	6,74d	2,87b	2,47b
2	6,97d	2,38c	1,92c
3	7,24c	1,82d	1,43d
4	7,62b	1,42e	0,99e
5	8,54a	0,79f	0,50f
F	184,55*	2.404,44*	1.280,30*
CV%	1,92	2,89	4,28

CV = Coeficiente de Variação; médias seguidas de letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; *significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Na Figura 6A é ilustrada a variação média na remoção do fósforo total, ortofosfato e aumento do pH em função do tempo, no sistema sem recirculação do efluente.

Na Figura 6B são mostradas as eficiências de remoção do fósforo total e ortofosfato em função do tempo de reação do efluente sem recirculação do efluente. Com três horas de contato as eficiências de remoção foram de 64, 49% e 65,88 % para o fósforo total e ortofosfato, respectivamente. No tempo máximo (5 h) de reação as eficiências de remoção foram de 84,58 e 88,10 % para o fosforo total e ortofosfato, com aumento do pH para 8,5, respectivamente.

Figura 6 – Concentrações de fósforo total (P_{tot}) e ortofosfato (P) em relação ao aumento do pH (6A); Eficiência de remoção do fósforo e ortofosfato em função do tempo (6B), nos ensaios sem recirculação do efluente



3.3 Concentrações de fósforo e eficiências de remoção com recirculação do efluente

Na Tabela 2 são apresentados os resultados das médias dos parâmetros analisados no efluente do biorreator com recirculação do efluente, ao longo do tempo de biorreação. A análise de variância indicou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para o pH, fósforo total e ortofosfato em função do tempo de reação.

Com recirculação do efluente no biorreator, todas as médias do pH e ortofosfato apresentaram diferença estatística entre si. As médias do fósforo total só não apresentaram diferença estatística significativa entre si para o período entre 3 e 4 horas de reação. Para o pH, a máxima média foi de 9,54 com 5 horas de reação, o que correspondeu a um incremento de 3,47. As menores concentrações médias de fósforo total e ortofosfato foram de 0,38 e 0,19 mgP L⁻¹, respectivamente, obtidas também com 5 horas de reação.

Tabela 2 – Médias do potencial hidrogeniônico (pH), fósforo total (P_{tot}) e ortofosfato (P) do efluente utilizado na alimentação (0 h) e coletados no biorreator após os tempos de 1 a 5 horas de reação com recirculação do efluente

Tempo de reação (h)	Parâmetros		
	pH	P_{tot} (mgP L ⁻¹)	P (mgP L ⁻¹)
0	6,07f	4,91a	3,88a
1	7,22e	3,55b	2,56b
2	7,97d	1,91c	1,64c
3	8,64c	0,57d	0,83d
4	9,14b	0,53d	0,50e
5	9,54a	0,38e	0,19f
F	1.472,96*	6.139,63*	2.550,09*
CV(%)	0,93	2,72	3,90

CV = Coeficiente de Variação; médias seguidas de letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; *significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

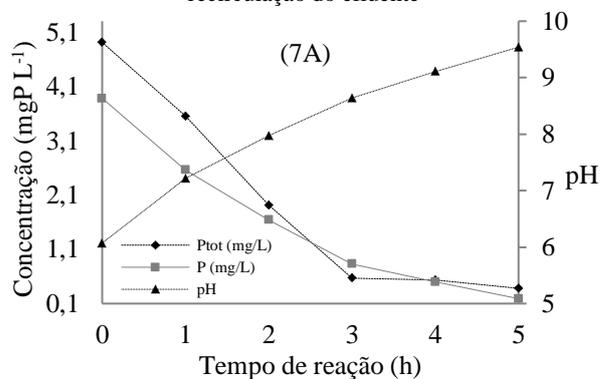
Na Figura 7A são apresentadas as variações das concentrações médias do fósforo total, ortofosfato e valores de pH no efluente do biorreator com recirculação do efluente em função dos tempos de biorreação. Observa-se que durante as cinco horas de reação ocorrem aumentos do pH e decréscimo das concentrações de fósforo.

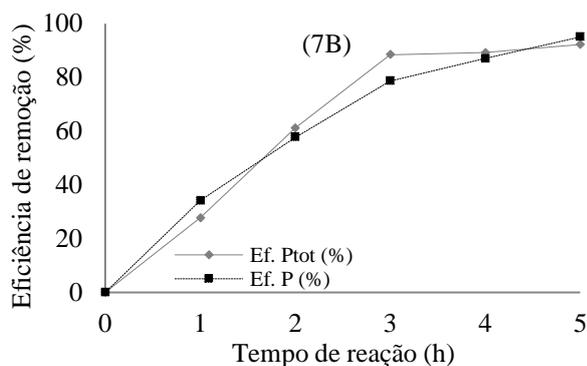
Os resultados das eficiências médias de remoção em função do tempo, do fósforo total e ortofosfato estão ilustrados na Figura 7B.

Em conformidade com a Figura 7A, após três horas de contato, o pH do efluente foi de 8,64, superior aquele do biorreator sem recirculação (pH = 8,54), após cinco horas de contato. Com três horas de biorreação, as eficiências de remoção foram de 88,44 e 78,67% para o fósforo total e ortofosfato, respectivamente.

Com cinco hora (5 h) o pH aumentou para 9,54 e as eficiências de remoção do fósforo e ortofosfato foram de 92,26 e 95,05%, respectivamente.

Figura 7 – Concentrações de fósforo total (P_{tot}), ortofosfato (P) e aumento do pH (7A); Eficiência de remoção do fósforo total e ortofosfato (7B), em função do tempo, nos ensaios com recirculação do efluente





3.4 Discussão dos resultados das concentrações de fósforo e eficiências de remoção

Segundo von Sperling (2009), em sistema de lagoas de estabilização o fósforo é removido por precipitação química, pois a elevados valores de pH o fosfato pode precipitar-se na forma de hidróxiapatita ou estruvita.

No sistema analisado, a hipótese que pode ser levantada é da assimilação pelas microalgas imobilizadas na matriz de alginato de cálcio, pois nos ensaios sem recirculação, após as biorreações, o efluente foi coletado na entrada de alimentação do biorreator e nos ensaios com recirculação, o efluente estava sempre em movimento, recirculando no biorreator, criando condições adversas para o processo de sedimentação de material precipitado.

Os resultados obtidos na pesquisa são coerentes com os encontrados por outros autores, pois Valderrama *et al.* (2002) em experimento cultivando a *Chlorella vulgaris*, em efluente industrial conseguiram remover 28% de fósforo em um período de quatro dias; Méndez (2003) analisando a utilização da *Chlorella* sp no tratamento de águas residuais obteve remoções de 61,68% de fósforo. Porém, Lau, Tam e Wong (1998) utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* imobilizada em carragena alcançaram 100% de eficiência na remoção de fósforo em águas residuárias. Por sua vez, Robinson (1998), utilizando a *Chlorella emersonii* imobilizada em suporte de alginato, obteve eficiência de remoção de fósforo em águas residuárias na ordem de 30, 60 e 90% após, 2, 4 e 8 horas de biorreação, respectivamente.

De acordo com Silva (2007), as maiores limitações práticas no tratamento de águas residuárias que empregam o metabolismo de algas é a separação dos sólidos, biomassa proveniente da descarga do líquido tratado. Nesse sentido, o possível emprego de algas imobilizadas em suportes físicos e acondicionadas em biorreatores pode permitir uma maior flexibilidade no desenho e construção de sistemas de reação que usam o metabolismo fotossintetizante, podendo inclusive otimizar os processos.

Os resultados alcançados na presente pesquisa confirmam a grande potencialidade das células de algas imobilizadas como tecnologia a ser utilizada no tratamento terciário de águas residuárias. Porém, investigações sobre outros materiais empregados para a imobilização celular artificial devem ser estudados, pois nesta pesquisa observou-se, que após entrar em contato com o efluente, as

esferas de alginato de cálcio se deterioravam em menos de oito dias.

CONCLUSÃO

Nas condições em que foram realizados os experimentos – sob iluminação contínua e temperatura de 27 °C–, as microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio mostraram-se eficazes na remoção do nutriente fósforo do efluente sanitário, com eficiência de remoção de mais de 88% e 95%, sob regimes de alimentação sem recirculação e com recirculação do efluente no meio de reação.

REFERÊNCIAS

- APHA. AWWA. WPCF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, DC. American Public Health Association. 15th ed. American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 1998.
- BORGHETTI, I. A. **Avaliação do crescimento da microalga *Chlorella minutíssima* em meio de cultura com diferentes concentrações de manipeira**. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2009, 113 p.
- CANILHA, L.; CARVALHO, W.; SILVA, J. B. A. Biocatalizadores imobilizados: uso de células e enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos. **Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento**, v. 36, p. 48-57, 2006.
- COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, R. **Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas**. Seminário: Ciências Exatas e Tecnológicas, v. 2, p. 143-160, 2007. <https://doi.org/10.5433/1679-0375.2007v28n2p143>.
- DINIS, M. A.; MONTEIRO, A.; BOAVENTURA, R. **Tratamento de águas residuais: O papel das microalgas**. 2004. Faculdade de Ciência e Tecnologia. Disponível em: <<http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/557/1/41FCT2004.pdf>>. Acesso em: 05 maio 2016.
- GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U.; SILVA, A. N. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1800-1806, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700035>.
- LAU, P. S.; TAM, N. F. Y.; WONG, Y. S. Carrageenan as a matrix for immobilizing microalgal cells for wastewater nutrients removal. In: Wong, Y. S.; Tam, N. F. Y. **Wastewater treatment with algae**. **Spring-Verlag**, v. 9, p. 145-163, 1998.
- LIMA, D. F. **Tratamento conjugado de águas residuárias e lixiviado de aterro sanitário em lagoas de estabilização rasas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande, PB, 2010, 95 p.
- MARCON, A. E. **Remoção de coliformes fecais com microalgas (*Chlorella*) imobilizadas em matriz de**

alginato de cálcio. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 2005, 62 p.

MÉNDEZ, N. J. Evaluación de la remoción de fosforo y nitrogenio de aguas residuales por el alga *Chlorella sp.* **Revista Institucional de la Facultad de Salud.** Colombia, v. 2, p. 41-46, 2003.

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

ROBINSON, P. K. Immobilized algal technology for wastewater treatment purposes. In: Wong, Y. S.; Tam, N. F. Y. ed. Wastewater treatment with algae. **Springer-Verlag**, v. 1, p. 1-16, 1998. https://doi.org/10.1007/978-3-662-10863-5_1.

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.** Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, SP, 2010, 89 p.

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

SILVA, M. C. C. P. **Tratamento terciário de efluente secundário, usando a microalga *Chlorella sp.* imobilizada em matriz de alginato de cálcio.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, 2011, 79 p.

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

VALDERRAMA, L. T.; DEL CAMPO, C. M.; RODRIGUEZ, C. M.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Treatment of recalcitrant wastewater from ethanol and citric acid production using the microalgae *Chlorella vulgaris* and the macrophyte *Lemna minuscula*. **Water Research**, v. 36, n. 17, p. 4185-4192, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00143-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00143-4).

von SPERLING, M. **Remoção de nutrientes em sistemas naturais.** Mota, F. S. B.; von Sperling, M. (Coord.). PROSAB. 1. ed. ABES, Rio de Janeiro, RJ, 2009.