

II-253 - CO-REMOÇÃO DE FÓSFORO E COLIFORMES TERMOTOLERANTES DE EFLUENTE SECUNDÁRIO UTILIZANDO MICROALGAS IMOBILIZADAS

Howard William Pearson⁽¹⁾

BSc em Botânica, PhD em Microbiologia Ambiental (University of London. UK), Professor visitante da UEPB

Maria Célia Cavalcante de Paula e Silva

Mestre em Ciência e Tecnologia/CCT/UEPB.

Lazaro Ramom dos Santos Andrade

Biologo pela UEPB

Silvania Nobrega Oliveira

Mestranda em Ciência e Tecnologia/CCT/UEPB

José Tavares de Sousa

Mestre em Engenharia Civil pela UFPB. Doutor em Hidráulica e Saneamento pela Universidade de São Paulo (USP). Professor da UEPB. Professor do Doutorado em Recursos Naturais da UFCG

Endereço⁽¹⁾: Departamento DESA- Universidade Estadual da Paraíba, Campus Universitário Bodocongó 58109-900, Campina Grande - Paraíba - (0xx)83 3315-3300. Email: howardpearson@uepb.edu.br. Telefone para contato: 99732322.

RESUMO

A contaminação dos mananciais por esgotos domésticos e industriais é um dos principais causadores da poluição ambiental, gerando eutrofização e queda na qualidade sanitária dos recursos hídricos. Há algumas décadas, as algas imobilizadas têm sido usadas no tratamento de águas residuárias. A tecnologia de imobilização de microalgas em esferas de alginato de cálcio aumenta a longevidade fotossintética, viabilidade, durabilidade e atividade biocatalisadora celular. Esse estudo investigou em escala de laboratório, o potencial da microalga *Chlorella sp.* na remoção de fósforo e coliformes termotolerantes de efluente secundário. As cepas de *Chlorella sp.* foram isoladas de um sistema de 4 lagoas rasas com dimensões de 1m de largura, 5m de comprimento e 0,5m de profundidade que tratava lixiviado, com alta concentração de nitrogênio amoniacal. O sistema experimental constituiu-se por 2(dois) bioreatores (volume de 0,1L). Cada bioreator foi preenchido com aproximadamente $9,55 \times 10^2$ esferas ($14 \text{ esferas mL}^{-1}$ efluente). Um destes foi estruturado com esferas de alginato sem algas (controle negativo) e o outro com algas imobilizadas em esferas de alginato de cálcio em concentrações de 2%, sendo mantidos a 20 cm de distância das lâmpadas fluorescentes de $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, passando a receber 68 ml efluente secundário oriundo do TS (tanque séptico) em regime de batelada intermitente com tempo de contato de 5 h para fósforo, e 6 h para coliformes termotolerantes. O experimento foi realizado em temperatura controlada de 27°C e sob a iluminação de 4 lâmpadas fluorescentes de 40 Watts. Os principais mecanismos envolvidos no tratamento dos efluentes foram a atividade fotossintética das algas e as reações bioquímicas entre os constituintes da matriz imobilizante e o efluente. Remoções significativas de fósforo total (80%) ocorreram em 3 h de contato e reduções médias de 99,9999% de coliformes termotolerantes em 6 horas de contato dos afluentes (concentração média de 10^6 UFC/100mL).

PALAVRAS-CHAVE: *Chlorella sp.* imobilizada, co-remoção, fósforo, coliformes termotolerantes, águas residuárias.

INTRODUÇÃO

As ações antrópicas de ordem social ou econômica no meio ambiente têm desencadeado significativas modificações que estão ameaçando a vida do ser humano. Na atualidade, os efeitos dessa degradação são percebidos na biocenose, pois os diversos resíduos gerados são normalmente dispostos de forma incorreta e sem o devido tratamento. Essa constatação é registrada no Brasil e no mundo, onde a urbanização desenfreada, bem como a concentração da população e das atividades industriais sobre o mesmo espaço, tem contribuído para a eutrofização dos corpos d'água através do despejo de águas residuárias sem tratamento adequado.

Segundo Munoz e Guieysse (2006) as microalgas favorecem a remoção de nutrientes, contaminantes orgânicos, metais pesados e microrganismos patogênicos das águas residuárias domésticas, e que, o uso de sistemas de biomassa imobilizada não apresentam as dificuldades da separação das algas do efluente final dos reatores.

O tratamento biológico terciário das águas residuárias com microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio consiste na remoção de nutrientes e patógenos, objetivando produzir efluente de boa qualidade sanitária que atenda aos padrões de lançamento da legislação vigente.

A tecnologia do processo de imobilização de microalgas em matrizes de alginato surgiu como uma importante técnica para aumentar a longevidade fotossintética e biocatalizadora celular (ROBINSON et al., 1985; MEGHARAJ et al., 1992). Esta tecnologia não previne apenas que a biomassa seja levada para fora dos bioreatores, mas também oferece um grande avanço na flexibilidade operacional e na fácil separação das algas dos efluentes tratados (MALLICK e RAI, 1993). Vários trabalhos indicam remoção de bactérias entéricas patogênicas, coliformes termotolerantes, vírus, nitrogênio, fósforo, metais, biocidas e outros compostos químicos de afluentes contaminados, através de culturas de microalgas submetidas a fluxo contínuo ou não, bem como demonstraram uma significativa redução dos microrganismos patogênicos e nutrientes nos bioreatores sob condições ideais (SIAN, 1984; MEGHARAJ, 1992; LAU et al., 1997; TAM e WONG, 2000; DE-BASHAN et al., 2002).

A biotecnologia consiste na utilização de sistemas e de componentes celulares para a obtenção de produtos e para o desenvolvimento de processos industriais. No processo de imobilização, ocorre a retenção de células ou enzimas em uma estrutura física insolúvel, o que as obriga a permanecerem em uma região particular do bioreator.

Há seis grupos de métodos de imobilização: adsorção, floculação, ligação covalente, ligação cruzada, aprisionamento em membranas semipermeáveis e aprisionamento em gel, este último é mais utilizado para imobilização de células vivas (PRADELLA, 2001; MORENO-GARRIDO, 2008). O gel polissacarídeo mais comumente usado é o alginato. O alginato comercial é extraído de algas marrons, principalmente de espécies dos gêneros *Laminaria* e *Sargassum* e das espécies *Macrocystis pyrifera*, *Ascophyllum nodosum* e *Lesonia negrescens*.

Segundo Wang et al. (2005) o mecanismo clássico de imobilização por engaiolamento é a mistura de células microbianas com um composto polimérico que apresente cargas negativas, a exemplo do alginato de sódio, essa mistura é gotejada em uma solução de CaCl_2 com íons Ca^{2+} , o qual promove a formação de ligações iônicas, que resultam na formação de um gel consistente e insolúvel denominado alginato de cálcio, o qual imobiliza o microrganismo.

A utilização de algas imobilizadas tendo em vista a remoção biológica de fósforo é uma metodologia muito atual, elas assimilam o fósforo inorgânico para o seu metabolismo e através do processo fotossintético, favorecem as condições ambientais para que se desenvolvam outros mecanismos de remoção química, tais como a sorção e a precipitação do fosfato na matriz.

Considerando a relevância do emprego da tecnologia das algas imobilizadas no contexto de preservação dos recursos hídricos apontada em literatura corrente, nesta pesquisa, são relatados resultados de experimentos de remoção simultânea, de fósforo e coliformes termotolerantes em bioreatores tubulares com algas imobilizadas melhorando a qualidade do efluente antes de seu lançamento para o meio ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento e Imobilização

As cepas de *Chlorella sp* foram isoladas de uma série de 4 lagoas rasas localizadas na Estação Experimental de Tratamentos Biológicos de Esgotos Sanitários (EXTRABES) situada no Bairro do Tambor, na cidade de Campina Grande – PB, ($7^{\circ}14'22''\text{S}$ e $35^{\circ}53'05''\text{W}$ e 550m). Foram coletados e centrifugados 100 mL de efluente da lagoa de estabilização. As algas concentradas foram inoculadas em tubos de ensaio pré-esterilizados contendo Meio Basal Bold's (MBB) com 2% de ágar, mantidas em fotoperíodo de 24 horas, com temperatura

controlada (27⁰C), sob iluminação de lâmpadas fluorescentes de 40 watts. Passados 21(vinte e um) dias foi feito o isolamento do gênero algal seguido de cultivo em Meio Basal Bold's.

Na imobilização, utilizou-se 4 gramas de alginato de sódio dissolvidos em 100 mL de água destilada, devidamente esterilizados. Paralelamente 4,4 g de cloreto de cálcio foram diluídos para 100 ml de água destilada, sendo esta solução (0,4M). Foram centrifugados 1000 mL de meio de cultivo de *Chlorella sp.* a 3000 rpm e (FCR=950 g) e o concentrado de microalgas misturado em alginato de sódio na proporção 1:1. Posteriormente essa suspensão alga-alginato, foi vertida de uma bureta de 50 mL em 400 mL de CaCl₂ a 0,4 M sob agitação por 0,5 h para rigidez das esferas. No caso das esferas formadas sem algas (controle), procedendo-se a imobilização conforme descrito anteriormente sem adição do sedimento algal. Na Figura 1 estão apresentadas esferas com algas imobilizadas.



Figura 1: Esferas com algas imobilizadas

Caracterização dos bioreatores e das condições de realização do experimento

O estudo foi feito a partir de dois bioreatores tubulares de vidro pyrex transparente, em escala de laboratório, com capacidade de 0,1L, tendo em cada um, uma torneira na parte inferior, 1 cm de leito fixo de fibra de vidro estando preenchidos por 0,06L de esferas, aproximadamente $1,146 \times 10^3$ (19 esferas/mL de efluente) com 2% de concentração final de alginato em suspensão para as esferas com algas imobilizadas e 4% para as esferas de alginato (controle). O regime de alimentação do sistema foi em batelada intermitente, tempo de contato de 5 horas para avaliar a remoção de fósforo e 6 horas para avaliar o decaimento de coliformes termotolerantes. O pH foi medido no sistema a cada hora, quando coletada a amostra de 10 ml de cada reator. O ensaio era iniciado com a coleta de 100 mL de afluente no tanque séptico que apresentava concentração média de coliformes termotolerantes de 10^6 UFC/100mL e a concentração média de fósforo de 4,5 mg.P/L, após separação da amostra T₀, era feita a alimentação do sistema pela extremidade superior. A temperatura foi controlada (27⁰C). Durante 6 horas coletou-se uma amostra de 10 mL pela torneira a cada tempo de contato de 1 h, aferia-se o pH sendo a amostra conduzida para avaliação dos parâmetros químicos e bacteriológicos. Durante a realização deste estudo foi utilizada apenas uma amostra de esferas com algas imobilizadas, três experimentos em triplicata ao longo de 15 dias. Após finalização de cada experimento, as lâmpadas eram apagadas e os bioreatores preenchidos por água destilada, deixando as esferas imersas, até a realização do próximo ensaio. Na Figura 2 estão apresentados os bioreatores controle e com algas imobilizadas.



Figura 2: Bioreatores- microalgas e controle.

Caracterização do efluente

O efluente utilizado na alimentação do sistema foi oriundo do tanque séptico (TS). Na Tabela 1 estão apresentados os valores das concentrações médias dos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos analisados. Estes seguiram os métodos preconizados por APHA, (1998).

Tabela 1: Caracterização do efluente utilizado para alimentar os bioreatores.

<i>PARÂMETROS</i>	<i>TS</i>	<i>DESVPAD</i>
DQO (mg/L)	214	130,6
pH	7,79	0,39
Fósforo total (mg P/L)	7,3	3,44
Ortofosfato solúvel (mg.P-PO ₄ ³⁻ /L)	4,3	1,39
Turbidez (UT)	46,06	11,9
Temperatura (°C)	23,4	3,2
SST (mg/L)	50	12
Condutividade (dS/m)	1,723	0,9
Coliformes termotolerantes (UFC/100mL)	2,7 x10 ⁶	-
Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	334,76	71,8
Nitrito (mg N-NO ₂ ⁻ /L)	0,17	0,03
Nitrato (mg N-NO ₃ ⁻ /L)	4,00	0,74
Amoniacal (mg N-NH ₄ ⁺ /L)	35	14,2
NTK (mg N-NTK /L)	40,78	9,5

Os parâmetros químicos e bacteriológicos (métodos analíticos) adotados no estudo foram realizados segundo a metodologia preconizada em APHA, 1998 e estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros avaliados e métodos analíticos adotados.

Parâmetro	Metodologia	Referência
pH	Padrões 4,7 e 9,0 para calibração e leitura	APHA, 1998
Fósforo total	Colorimétrico com ácido ascórbico	APHA, 1998
Orto-fosfato	Colorimétrico com ácido ascórbico	APHA, 1998
Coliformes termotolerantes	Técnica de membrana filtrante	APHA, 1998

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Remoção de fósforo

Foi observada significativa remoção química realizada pelas esferas de alginato no bioreator controle na primeira hora de contato, com registro de remoção média de 50% para fósforo total e 62% para ortofosfato. Os resultados de remoção média de fósforo total estão representados na Figura 3 e de remoção média de ortofosfato na Figura 4.

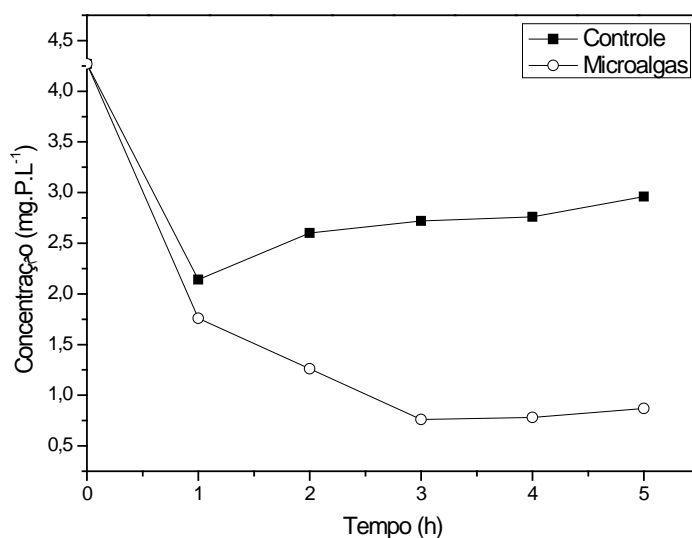


Figura 3: Remoção média de 3 experimentos de fósforo total em triplicata durante período de 24 dias.

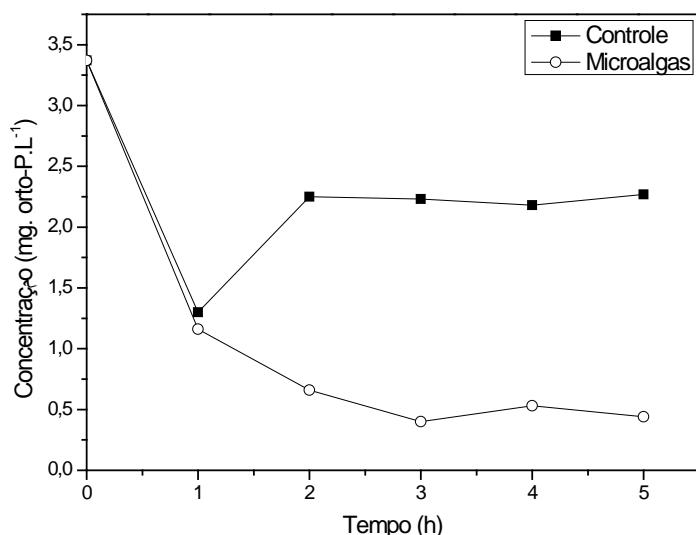


Figura 4: Remoção média de 3 experimentos de ortofosfato solúvel em triplicata durante período de 24 dias.

Remoção Bioativa (realizada pelas algas)

De acordo com a interpretação dos dados observados nestes experimentos, as algas imobilizadas realizaram ao final de um perfil de 5 h, eficiência média de remoção em torno de 87% para ortofosfato e 79,63% para fósforo total e obtiveram maior eficiência na remoção de fósforo em relação ao controle em todos os tempos de contato, atingindo seus maiores percentuais na 4ª hora de contato para fósforo total (71,43%) de acordo com a Figura 19, na 3ª hora para ortofosfato (82,61%). A remoção química, realizada pelas esferas controle durante o ensaio, foi aproximadamente 31% para as duas formas de fósforo. Os resultados obtidos nestes ensaios, podem ser relacionados aos dois mecanismos de remoção anteriormente citados, nesse aspecto, devendo ser observada a relevância do processo fotossintético realizado pelas algas, elevando o pH do meio, favorecendo a remoção de fósforo. Nas Figuras 5 e 6 está apresentada respectivamente a remoção de fósforo total e ortofosfato solúvel em relação à elevação do pH no sistema.

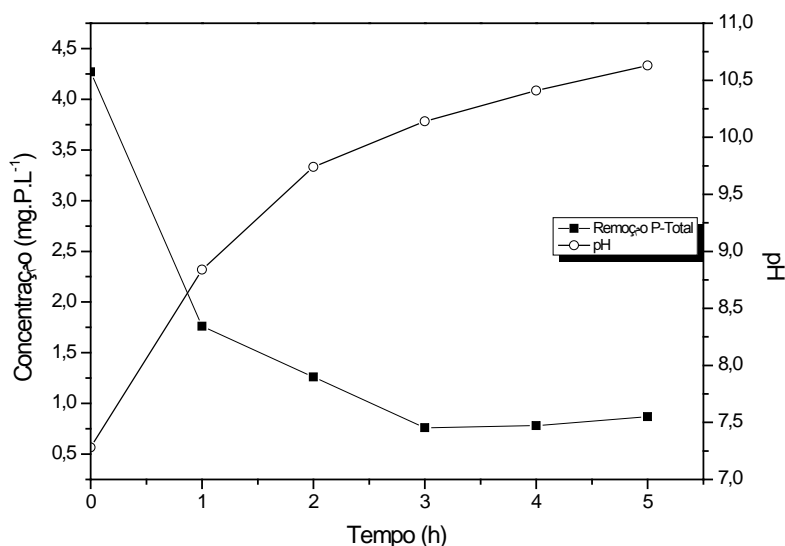


FIGURA 5: Remoção média 3 experimentos em triplicata de fósforo total durante a batelada em comparação com a elevação do pH no sistema.

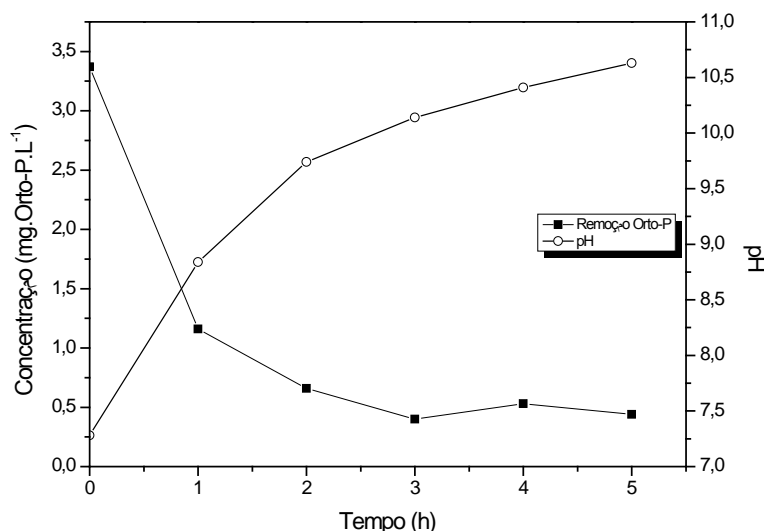


FIGURA 6: Remoção média de 3 experimentos em triplicata de ortofosfato solúvel durante a batelada em comparação com a elevação do pH no sistema.

Decaimento de coliformes termotolerantes

Os resultados foram analisados através de amostras de quatro experimentos laboratoriais sob luz artificial. Os valores das reduções de todos os experimentos foram expressos em escala logarítmica em relação à redução dos controles. Foi observada redução significativa na concentração de coliformes termotolerantes em bioreator de *Chlorella sp.* em relação ao controle, para os tempos de contato de 2 horas (99%) e 6 horas (99,9999%). Houve uma remoção média de 99% (2 logs) a cada 2 horas de contato do efluente contaminado com as esferas de algas imobilizadas. Na Tabela 3 estão apresentados os valores médios obtidos em três experimentos realizados em ambiente com temperatura

controlada (27°C). Na Tabela 3 estão apresentados os dados de decaimento de coliformes termotolerantes no sistema em comparação com a variação do pH em cada hora de contato.

TABELA 3: Valores médios de remoção de coliformes termotolerantes (bioreatores de 0,1L)

COLIFORMES TERMOTOLERANTES				
Tempo(h)	Reator com algas		Reator sem algas	
	UFC*/100 mL	pH	UFC*/100 mL	pH
0	1,42 x 10 ⁶	7,28	1, 42 x 10 ⁶	7,28
1	2,18 x 10 ⁵	8,84	1,38 x 10 ⁶	7,38
2	1,17 x 10 ⁴	9,74	1,45 x 10 ⁶	7,47
3	0,4 10 ⁴	10,14	1,40 x 10 ⁶	7,53
4	2 x 10 ³	10,41	1,32 x 10 ⁶	7,62
5	0,5 x 10 ²	10,63	1,34 x 10 ⁶	7,77
6	0	10,99	1,25x 10 ⁶	7,79

*Unidades Formadoras de Colônias

Pearson et al. (1987a) analisando em laboratório os efeitos da temperatura sobre o decaimento de coliformes termotolerantes a pH=9, concluíram que aumenta o decaimento com o aumento da temperatura dos mesmos. Porém, em outros experimentos laboratoriais com pH=7,6 decaimentos significativos ocorrem apenas com temperaturas de 35^o C. Os autores indicam que os valores de pH>9 representam papel fundamental na eficiência do decaimento de coliformes termotolerantes. Os decaimentos observados nestes experimentos indicam que, sob as condições de operação descritas, os sistemas com microalgas são eficazes na redução da concentração de coliformes termotolerantes. Na Figura 7 estão apresentados os valores de decaimento de coliformes termotolerantes por algas imobilizadas. A elevação do pH desempenhou papel fundamental na eficiência bactericida do sistema. Conforme Tabela 3, os dados indicam que em pH em torno de 11, e em temperatura controlada de 27^oC, a atividade celular das microalgas e a irradiação de fótons sob os efluentes atuaram em conjunto para promover o decaimento bacteriano. Nesta, representados os valores médios de co-remoção (de fósforo e coliformes termotolerantes) em bioreatores de 0,1L alimentados pelo efluente do tanque séptico em regime de batelada intermitente. Os dados de co-remoção de fósforo e coliformes termotolerantes estão apresentados na Tabela 4.

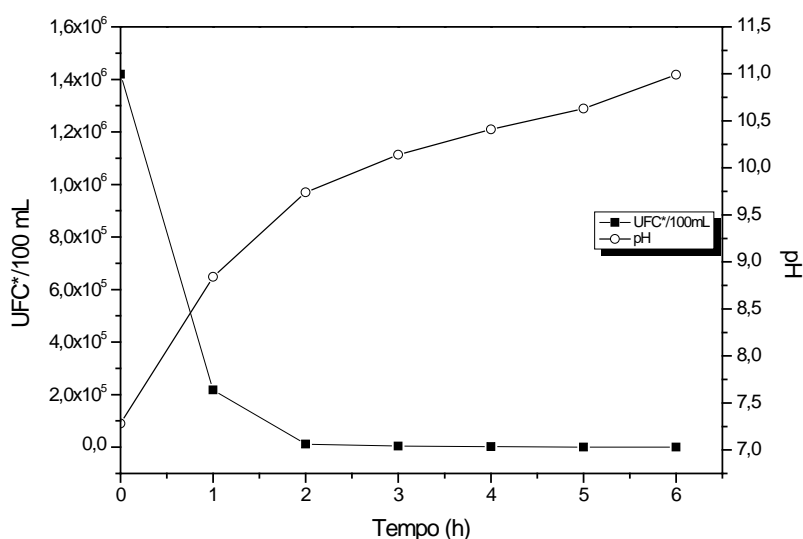


Figura 7: Decaimento de coliformes termotolerantes em bioreator com algas imobilizadas - comparação com a variação do pH

TABELA 4: Valores médios de co-remoção de fósforo e coliformes termotolerantes

Tempo de Contato (h)	Concentração mg.P/L	Concentração mg P-PO ₄ ⁻³ /L	Coliformes termotolerantes	pH
0	4,27	3,37	1420000	7,25
1	1,76	1,16	218000	9,07
2	1,26	0,66	11700	9,77
3	0,76	0,4	4000	9,98
4	0,78	0,73	2000	10,26
5	0,87	0,44	500	10,62
6	-	-	0	10,97
Eficiência	79,72%	86,98%	99,9999%	-

Análise de pH

A variação de pH a cada hora foi de 0,085, enquanto que a do reator com algas foi de 0,6. Em ambos os reatores o pH médio inicial foi de 7,28 havendo, após 5 horas, um incremento no reator controle para 7,77 e no reator com algas *Chlorella sp.* para 10,63, indicando que o metabolismo desses organismos tem uma ação significativa no aumento do pH. Na Figura 8 estão representados os valores médios de pH dos bioreatores controle e com microalgas imobilizadas.

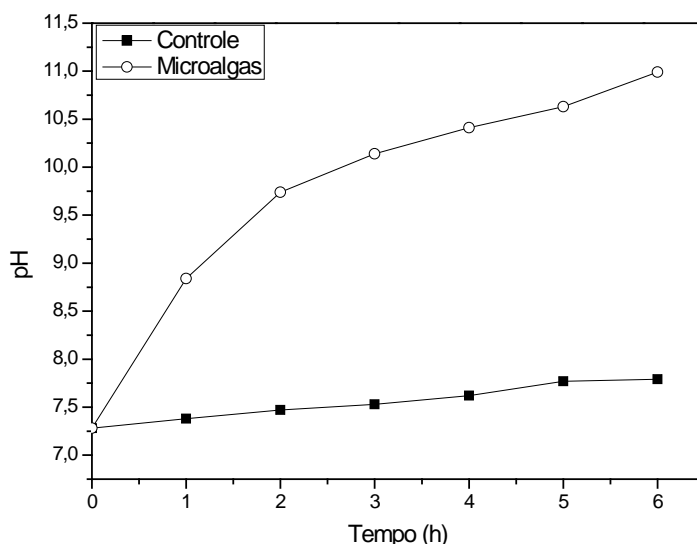


FIGURA 8: Valores médios de pH nos bioreatores controle e com algas imobilizadas

As desinfecções observadas nestes experimentos indicam que sob condição favorável de fótons, os sistemas com microalgas são eficazes na redução da concentração de coliformes termotolerantes. Os valores básicos de pH desempenharam papel fundamental na eficiência bactericida e na precipitação de fósforo no interior da esfera. Jimenez-Perez et al. (2004), avaliando a absorção de fósforo em microalgas verdes imobilizadas e microalgas livres, atribuíram essa remoção de fósforo em microalgas imobilizadas, à elevação do pH no sistema, à assimilação realizada pelas algas e também pela precipitação de fósforo dentro da matriz de alginato de cálcio.

Os percentuais de fósforo total e coliformes termotolerantes obtidos até a 5ª hora de contato estão dentro das Diretrizes da Organização Mundial de Saúde para irrigação irrestrita e da Resolução 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) para lançamento em corpos hídricos de efluente tratado.

As algas imobilizadas permanecem bioativas por 18 meses imersas em água destilada, no escuro à 4°C. Uma vez montado o sistema, removeram satisfatórios percentuais de fósforo total, mesmo quando os ensaios foram realizados em dias consecutivos (caso dos experimentos 1 e 2). Estes resultados indicam que as mesmas microalgas atuam assimilando novamente fósforo mesmo quando não são colocadas em tempo de descanso durante os ciclos. As algas imobilizadas mantiveram resultados similares no terceiro ensaio, realizado 13 dias após o segundo.

Diante do trabalho desenvolvido, considera-se que ainda existem aspectos técnicos dentro da biotecnologia das algas imobilizadas que merecem ser investigados, portanto recomendam-se:

A Investigação de novas configurações geométricas para os bioreatores, favorecendo aos processos metabólicos (notadamente a fotossíntese) que é fundamental nos sistemas de algas imobilizadas;

A avaliação desses bioreatores com a *Chlorella sp.* e outras espécies de microalgas imobilizadas, em escala-piloto em regime de fluxo contínuo.

CONCLUSÕES

Uma mesma amostra de algas imobilizadas em regime de batelada, apresenta eficiência de remoção de coliformes termotolerantes e fósforo em diversos experimentos ao longo de 15 dias de operação;

Bioreatores operando em regime de batelada intermitente, apresentou eficiência de co-remoção de fósforo total de 80% e decaimento de coliformes termotolerantes de 99,9999%;

Os resultados apontam para o potencial de co-remoção de fósforo e coliformes termotolerantes das microalgas em bioreatores tubulares em escala laboratorial, com luz contínua, temperatura de 27°C e tempo de retenção ótimo de 3 horas para remoção de fósforo e 6 horas para remoção total de coliformes termotolerantes em regime de batelada intermitente. As condições operacionais ótimas ainda estão em investigação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 18th Edition. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington, DC. 1998.
2. DE- BASHAN, L. E.; MORENO, M.; HERNANDEZ, J. P.; BASHAN, Y. **Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the micro-algae *Chlorella vulgaris* co-immobilized in alginate beads with the micro-algae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasiliense***. Water Resour., v. 36, 2002. p. 2941-2948.
3. JIMENEZ-PEREZ, M. V.; SANCHEZ-CASTILLO, P.; ROMERA, O.; FERNANDEZ-MORENO, D.; PEREZ-MARTINEZ, C.; **Crescimento e remoção de nutrientes em livre e imobilizada planktonic green algae isolated from pig manure**. Enzima Microb. Technol. 34, 392–398. 2004.
4. LAU, P. S.; TAM, N. F. Y.; WONG, Y. S. **Wastewater nutrients (N and P) removal by carrageenan and alginate immobilized *Chlorella vulgaris***. Environmental Technology, v. 18, 945-951. 1997.
5. MALLICK, N., RAI, LC, 1993. **Influence of culture density, pH, organic acids and divalent cations on the removal of nutrients and metals by immobilized *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris***. World J. Microb. Biotechnol. 9, 196– 201
6. 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, v. 14, 1992. p.656-658.
7. MORENO-GARRIDO, I. **Microalgae immobilization: Current techniques and uses**. Bioresource Technology, v. 99, 2008.p.3949–3964.
8. MUNOZ, R. and Guieysse, B. (2006) **Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review**. Water Research, 40 (15), 2799-2815.
9. PEARSON, H. W.; MARA, D. D.; BARTONE, C.R. 1987 (a). **Guidelines for the minimum evaluation of the performance of full-scale waste stabilization ponds systems**. Water Research, vol. 21, n. 9, 1067-1075 p.
10. PRADELLA, J. G. C.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Reatores com células imobilizadas**. In: **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. 4 v. v 2, cap. 16, p. 355-372.
11. ROBINSON, P. K.; DAINTY, A. L.; GOULDING, K. H.; SIMPKINS, I.; TERVAN, M.D. **Physiology of alginate-immobilized *Chlorella***. Enzyme, Microbiology and Technology. v. 7, 1985. p. 212-216.
12. TAM, N. F. Y, WONG, Y. S, **Effect of immobilized microalgal bead concentrations on wastewater nutrient removal**. Environ. Pollut. 107, 145-151. 2000.
13. WANG, L.; RIDGWAY, D.; GU, T.; MOO-YOUNG, M. **Bioprocessing strategies to improve heterologous Biotechnology Advances**, New York, v. 23, n. 2, p. 115-129, 2005.