

**Diversidade fitoplanctônica e redução de nutrientes (N e P) durante tratamento biológico de efluente anaeróbico***Phytoplanktonic Diversity and Nutrient Reduction (N and P) During Biological Treatment of Anaerobic Effluent*Adriano Evandir Marchello<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Botânica, São Carlos, SP<sup>2</sup>Autor para correspondência (*Author for correspondence*): driebologia@gmail.com**Resumo**

Os efluentes de estações de tratamento de esgoto apresentam elevada concentração de nutrientes inorgânicos, como nitrogênio (N) e fósforo (P), que podem ser usados para o crescimento algal. Dada à essa possibilidade, o uso desse resíduo pode tornar-se uma estratégia para a redução dos custos de produção de microalgas e/ou abatimento de gastos em estações de tratamento de esgoto. Isso teria como consequência a redução dos nutrientes melhorando assim sua qualidade antes do descarte final. Esta pesquisa teve como objetivo principal monitorar a comunidade fitoplanctônica presente em efluente resultante de tratamento anaeróbico de esgoto municipal e a redução de nutrientes (N e P). Foram realizados 2 bioensaios, um aerado e outro não aerado em amostras de 5 L incubadas em casa de vegetação com ambiente semicontrolado. Os resultados mostraram que não houve variação significativa do pH para qualquer um dos bioensaios. O bioensaio aerado apresentou redução nas concentrações de nutrientes (N e P). A curva de crescimento da comunidade fitoplanctônica apresentou uma fase de adaptação inicial apenas no bioensaio aerado, enquanto que no não aerado, o crescimento foi exponencial desde o início da incubação. A espécie *Chlorella vulgaris* foi a microalga dominante na comunidade fitoplanctônica em qualquer um dos bioensaios (99% do total). No bioensaio aerado, 12 táxons distribuídos em 5 classes algais estiveram presentes (Chlorophyceae, Cyanophyceae, Chrysophyceae, Euglenophyceae e Bacillariophyceae), enquanto que no não aerado, apenas 3 classes foram identificadas (Chlorophyceae, Cyanophyceae e Euglenophyceae), com 6 táxons. Dos resultados obtidos, conclui-se que o efluente de esgoto anaeróbico suportou o crescimento algal, principalmente da Chlorophyceae *C. vulgaris*, que melhorou a qualidade do efluente, reduzindo seu potencial de eutrofização.

**Palavras-chave:** Microalgas, Redução de nitrogênio, Redução de fósforo, *Chlorella vulgaris*.**Abstract**

Effluents from sewage treatment plants usually have high concentration of inorganic nutrients such as nitrogen (N) and phosphorus (P), which can be used for algal growth. Due to this possibility, the use of such wastewater can become a strategy for reducing the cost of microalgae production and/or reduction of costs in sewage treatment plants improving the quality of effluent to be discharged. This research aimed to monitor the phytoplanktonic community and nutrient (N and P) reduction from wastewater produced from anaerobic treatment of municipal sewage. Two bioassays were performed, an aerated and a non-aerated. Five liters samples of the wastewater were incubated in a green house with semi-controlled environment using batch mode. The results showed no significant variation in pH for any of the bioassays. The concentrations of nutrients (N and P) decreased in the aerated bioassay, but not in the non aerated one. The growth curve of phytoplanktonic community presented an initial adjustment/adaptation phase only in the aerated bioassay, whereas in the non aerated, microalgae growth was exponential since the beginning of incubation. The specie *Chlorella vulgaris* was dominant in the phytoplankton community in both bioassays coming to 99% of the total biomass. In the aerated bioassay, 12 taxa distributed into five classes were present (Chlorophyceae, Cyanophyceae, Chrysophyceae, Bacillariophyceae and Euglenophyceae), whereas in the non-aerated, only three classes were identified (Chlorophyceae, Cyanophyceae and Euglenophyceae), with 6 taxa. We conclude that the anaerobic sewage effluent supported algal growth, mainly the Chlorophyceae *C. vulgaris* and improved the anaerobic sewage treatment wastewater quality, reducing their potential for eutrophication.

**Key-words:** Microalgae, Nitrogen reduction, Phosphorus reduction, *Chlorella vulgaris*.

## INTRODUÇÃO

As microalgas são capazes de remover eficientemente nutrientes do ambiente em seu entorno porque necessitam de grandes quantidades de nitrogênio e fósforo para produção de material celular, como proteínas, ácidos nucleicos, ATP e síntese de fosfolipídios (McGriff & McKinney, 1972; Rawat et al., 2011). As microalgas fazem parte dos organismos envolvidos nos processos biológicos de tratamento de esgotos, secundário e terciário, que consistem de uma mistura de comunidades com alta diversidade, incluindo bactérias, protozoários, fungos e rotíferos, além de organismos patogênicos (Harrison, 1996; Metcalf & Eddy, 2003). Segundo Von Sperling (1996), alguns grupos algais predominam em relação a outros, dependendo das características físicas, químicas e biológicas dos efluentes.

Segundo Arceivala (1981), as microalgas são fundamentais no tratamento de efluentes e suas densidades podem superar à das bactérias, tornando a água de coloração esverdeada. Estudos sobre o uso de microalgas no tratamento de efluentes mostrou que o aumento de temperatura do meio e variação de pH, decorrentes do metabolismo algal, são responsáveis pela redução de organismos patogênicos. Além disso, antibióticos naturais e outros metabólitos produzidos pelas microalgas, e aderência à superfície celular das microalgas também auxiliam na redução dos patógenos (Pearson, 1986; Oswald, 1988a; Aksu, 1998; Metcalf & Eddy, 2003; Kiso et al., 2005).

A dominância de determinados grupos de microalgas encontrados nos efluentes pode indicar a carga orgânica e o grau de tratamento alcançado (König, 1990), sendo que os gêneros mais comuns são: *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Chlamydomonas*, *Micractinium*, *Euglena*, *Ankistrodesmus*, *Oscillatoria*, *Microcystis*, *Nitzschia*, *Navicula* e *Stigeoclonium* (Palmer, 1969; Mara & Pearson, 1998; Amengual-Morro et al., 2012).

Segundo Zhang et al. (2010), Chi et al. (2011) e Olguín (2012), a composição química dos

efluentes de tratamento anaeróbio de esgoto é adequada para o crescimento algal. Os compostos nitrogenados são convertidos em amônio, fonte importante de nitrogênio para as microalgas (Kassab et al., 2010). Outra vantagem, quanto ao uso de efluente anaeróbio para o crescimento de microalgas, é a presença de CO<sub>2</sub> na forma de bicarbonato, além de ácidos orgânicos que são utilizados no crescimento heterotrófico/mixotrófico de algumas microalgas (Larsdotter, 2006).

Além de redução da eutrofização nos corpos receptores, a comunidade fitoplanctônica apresenta a vantagem de produção de biomassa desses organismos, que pode ser de interesse comercial e/ou usado para a redução dos custos operacionais do próprio tratamento de esgoto (Hammouda et al., 1995; Hoffmann, 1998; Abeliovich, 2004; Park et al., 2011; Olguín, 2012). A presença de nitrogênio e fósforo nos efluentes é que suporta em grande parte o crescimento algal, sendo o nitrogênio um nutriente essencial e constituinte estrutural da biomassa. Pode alcançar entre 1-10% da massa seca. O fósforo, também essencial, pode atingir de 1-1,5% da massa seca em microalgas, sendo constituinte dos ácidos nucleicos e adenosina fosfatos (Richmond, 2004).

Considerando que o próprio efluente contém microalgas já adaptadas àquelas condições, e que essa comunidade pode variar com o efluente e suas características, entender a variação, composição e crescimento das populações autóctones de microalgas no efluente é importante para identificar quais microalgas podem ter interesse biotecnológico e em quais condições seu crescimento pode ser otimizado, vislumbrando-se uma produção algal em larga escala (Oswald, 1988b; Farina, 2011).

No presente estudo foi avaliada qualitativa e quantitativamente a comunidade de fitoplâncton autóctone em efluente secundário de ETE baseada em tratamento anaeróbio, e a redução de nutrientes nitrogenados e fosforados, durante incubação por 30 dias.

## MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de efluente secundário foram obtidas imediatamente após o tratamento anaeróbio e antes do descarte em corpo receptor na estação de tratamento de esgoto (ETE) no distrito de Água Vermelha, município de São Carlos, SP (Brasil). O esgoto que adentra ao sistema é oriundo do distrito de Água Vermelha, portanto contém uma mistura de constituintes orgânicos.

Amostras do efluente secundário resultante de tratamento anaeróbio (5 L) foram acondicionadas em fotobiorreatores (sistema estanque) com 8 L de capacidade cada, transparentes, revestidos internamente com sacos transparentes atóxicos de polietileno de baixa densidade (PBD). Os experimentos foram incubados na casa de vegetação por 30 dias, em condições parcialmente controladas de temperatura (23 – 30 °C) e intensidade luminosa (2,7 klux às 8:00 h e máximo de 20 klux às 12:00 h), com fotoperíodo natural. Quatro fotobiorreatores receberam aeração artificial com a bomba Regente Air Pump (modelo 8500), utilizado para a aeração em aquários, e quatro foram deixados sem aeração. Todos foram cobertos com filme plástico de PVC, que permite a passagem de gás. Portanto, cada bioensaio foi realizado com 4 réplicas. Amostras para determinação das condições iniciais do efluente foram retiradas antes da incubação e imediatamente após a chegada do efluente ao laboratório. Não houve inoculação de microalgas, as mesmas analisadas neste trabalho são autóctones, ou seja, já se encontram no efluente de ETE. Antes de cada coleta, os fotobiorreatores eram agitados, promovendo a homogeneização do meio.

A concentração de clorofila *a* foi determinada através de fluorescência *in vivo*, usando-se um fluorímetro da marca Turner Designs, U.S.A. (modelo Trilogy), por meio de equação obtida através de uma curva de calibração, plotando-se a intensidade de fluorescência versus a concentração de clorofila *a* extraída de culturas de *Chlorella sorokiniana*.

Os nutrientes totais (nitrogênio total Kjeldahl e

fósforo total) e dissolvidos (nitrato, nitrito, amônio, fósforo total dissolvido e fosfato inorgânico) foram determinados segundo APHA (2005). Para tal, 500 mL de meio de cultivo (efluente da ETE) foram coletados no início e no final do experimento, sendo que para determinação dos nutrientes dissolvidos as amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose com 0,45 µm de diâmetro de poro (Sartorius Stedim Biotech), após filtração prévia em membranas com porosidade de 3 µm para redução do material em suspensão.

As amostras para análise qualitativa da comunidade algal foram coletadas dos fotobiorreatores a cada 5 dias, preservadas em solução de formaldeído 4% e analisadas utilizando-se um microscópio óptico Zeiss (Axiovert 200), com aumento máximo de 2560 vezes. O sistema de classificação utilizado foi o de Van den Hoek et al. (2005) e a identificação das algas foi até o nível taxonômico mais detalhado possível, com base na literatura especializada (Komárek & Fott, 1983; Anagnostidis & Komárek, 1989; Komárek & Anagnostidis, 1999 e 2005; Bicudo & Menezes, 2005).

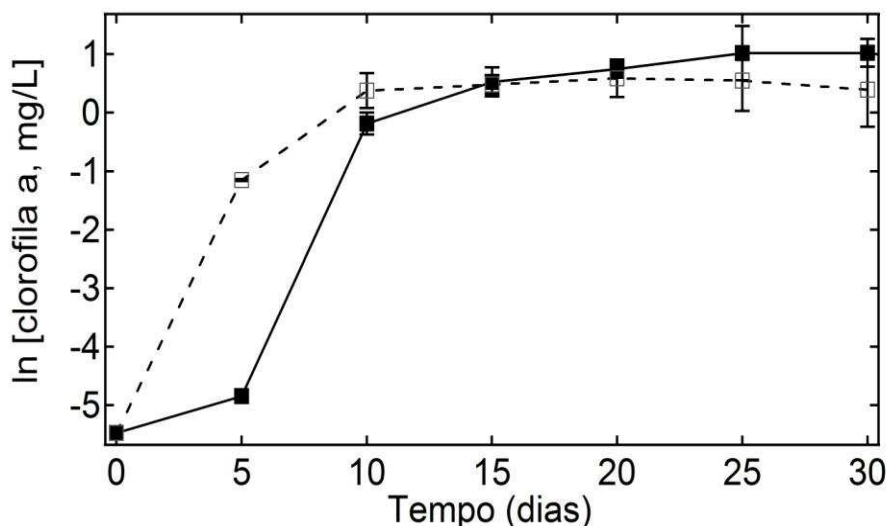
Para a análise quantitativa do fitoplâncton, 90 mL de amostra foram coletados dos fotobiorreatores, a cada 5 dias, e as amostras foram fixadas com solução de Lugol ácida. As populações de microalgas foram contadas sob microscópio invertido da marca Zeiss, com magnificação de 400 vezes de acordo com Utermöhl (1958). Dependendo da concentração de organismos, amostras variando entre 10 e 50 mL foram sedimentadas por no mínimo 3 horas (Wetzel & Likens, 1991). Os indivíduos (células, colônias, coenobia e filamentos) foram contados em campos aleatórios e as densidades calculadas de acordo com APHA (2005) e expressas em células por mililitro.

Os resultados foram analisados por meio de Teste t para comparar os valores médios obtidos a partir dos bioensaios aerado e não aerado. Para análise dos resultados dentro de cada bioensaio, utilizou-se ANOVA (software PaSt 3.0, Hammer et al., 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 observa-se a variação da concentração de clorofila *a* nos fotobiorreatores durante o período experimental. Houve aumento exponencial da comunidade de microalgas desde o 1º dia de incubação no bioensaio não aerado, enquanto

que no aerado foi detectada uma fase de adaptação do 1º ao 5º dia de incubação, quando então este bioensaio passou a apresentar crescimento exponencial do fitoplâncton. Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) quanto à concentração de clorofila *a* para os dias 5, 25 e 30 foram obtidas.



**Figura 1** - Variações da concentração de clorofila *a* ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) apresentada em log natural ( $\ln$ ) nos fotobiorreatores em função do tempo experimental nos bioensaios aerado (quadrados cheios) e não aerado (quadrados vazios).

**Figure 1** – Chlorophyll *a* concentration ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) showed in natural log ( $\ln$ ) in photobioreactors in function of experimental time in aerated (full squares) and non-aerated (empty squares) bioassays.

O crescimento fitoplanctônico obtido em ambos os bioensaios, aerado e não aerado, resultou no aumento de clorofila *a*. A fase de adaptação inicial observada na curva de crescimento no bioensaio aerado também foi encontrada nos resultados de Bernal et al. (2008), que observaram uma fase de adaptação das microalgas até o 8º dia quando cultivando microalgas em efluente de tratamento de esgoto, e do 8º até o 20º e 22º dias, obtiveram crescimento exponencial das microalgas. De acordo com Hammouda et al. (1995), Villaverde (2004) e Wiesmann et al. (2007), tratamentos anaeróbios de esgoto não removem os nutrientes N e P eficientemente,

permanecendo disponíveis para a comunidade fitoplanctônica, suportando o crescimento algal.

A Tabela 1 apresenta a porcentagem de redução dos nutrientes nos bioensaios aerado e não aerado. Observa-se que a redução de nutrientes foi maior no bioensaio aerado do que no não aerado, sendo expressivas as reduções de nitrogênio total orgânico (NTK) e fosfato. Também é observado que a concentração dos íons nitrito, nitrato e amônio não sofreram reduções no bioensaio não aerado.

**Tabela 1** - Porcentagem (%) de redução da concentração dos nutrientes nos bioensaios aerado e não aerado em relação com a concentração inicial no efluente secundário, comparando primeiro e último dia de cultivo.

**Table 1** – Reduction percentage (%) of nutrients concentration in aerated and non-aerated bioassays in relation to the initial concentration of secondary effluent, comparing first and last cultivation day.

<b>Nutriente</b>	<b>Aerado</b>	<b>Não Aerado</b>
Nitrito	68	Sem redução
Nitrato	54	Sem redução
Amônio	45	Sem redução
NTK	92	38
Fósforo Total	29	21
Fosfato	94	18
Fósforo Total Dissolvido	64	6

A diminuição da concentração de nutrientes no bioensaio aerado em relação à amostra inicial justifica-se pelo fato de que com aeração, o material orgânico presente no meio provavelmente sofreu oxidação pelas bactérias heterotróficas aeróbias e pelo oxigênio introduzido, disponibilizando, assim, os nutrientes. Estes foram, por sua vez, utilizados pelas microalgas e, com isso, suas concentrações foram reduzidas no meio (Cho et al., 2011). A aeração também contribuiu para criar turbulência, permitindo que as microalgas fossem levadas pelo movimento da aeração por toda a coluna d'água, tendo aumentado a probabilidade de contato com os nutrientes e evitando o sombreamento das microalgas (Larsdotter, 2006). Isso, conseqüentemente, aumenta o crescimento e a produtividade algal. Com aeração contínua, injeta-se, além de oxigênio, o CO<sub>2</sub>, nutriente essencial para as microalgas fotossintetizantes (Fontes et al., 1987; Becker, 1994) que o incorporam na forma de carboidratos. O oxigênio é utilizado pelas bactérias na degradação da matéria orgânica de microorganismos mortos, liberando ainda mais nutrientes para o uso pelas microalgas, explicando, assim, a maior redução dos nutrientes no bioensaio aerado em comparação ao não aerado.

A concentração de nitrogênio foi reduzida graças à somatória de processos que ocorreram simultaneamente devido ao borbulhamento: nitrificação, consumo de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> pelas microalgas e eliminação do N-NH<sub>3</sub> para a atmosfera (Zhang et al., 2011; Ray et al., 2012). Processos combinados de nitrificação-

desnitrificação têm sido considerados os métodos mais comuns de remoção de nitrogênio de efluentes e atribui-se cada um destes mecanismos a diferentes grupos de bactérias (Albuquerque et al., 2012).

A fase de adaptação durante o crescimento das microalgas observada no bioensaio aerado pode ser devida à aeração, que pode ter provocado alterações na estrutura abiótica do sistema. Esse resultado também foi observado por Zhang et al. (2011). No entanto, segundo Tappe et al. (1999) e Paredes et al. (2007), a concentração do nitrato também pode levar à fase de adaptação observada. Esses autores reportam que a oxidação de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> a NO<sub>3</sub><sup>-</sup> não é ativada imediatamente após a aeração, devido à manutenção da demanda de energia pelas bactérias oxidadoras e não oxidadoras de amônio, que também teria apresentado uma fase de adaptação. Com isso, a concentração inicial de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> seria menor do que após a oxidação do NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ter início, fato que poderia ser responsável pelo retardo da fase exponencial. No entanto, no bioensaio não aerado, o crescimento foi exponencial desde o início, mostrando que provavelmente esta explicação não se aplica ao presente estudo. Isso reforça que foi, fundamentalmente, a alteração nas condições ambientais impostas pela aeração que ocasionou o retardo da fase exponencial de crescimento.

No bioensaio não aerado, houve um grande aumento na concentração dos nutrientes NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no final do experimento em relação à amostra inicial. Pode-se, provavelmente, atribuir tal resultado ao

metabolismo de bactérias provenientes do tratamento secundário anaeróbio e que continuaram vivas no bioensaio não aerado, as quais atuaram na degradação da matéria orgânica proveniente do tratamento anaeróbio e da decomposição da biomassa algal morta nos últimos dias de experimento. Quanto maior a concentração de matéria orgânica, maior o metabolismo microbiano e, conseqüentemente, maior a liberação de nutrientes inorgânicos (N e P) no meio (Rodrigues et al., 2005).

Como no bioensaio sem aeração não houve turbulência, as microalgas decantaram e ficaram expostas de modo restrito aos nutrientes, resultando em menor uso dos mesmos e menor densidade celular em relação ao sistema aerado. Assim, os nutrientes liberados como resultado da atividade microbiana foram acumulados e quantificados ao final do bioensaio na forma de  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$ , resultando em uma concentração maior do que a inicial. Raven (1988), Borowitzka (1998) e Wood et al. (1999) obtiveram decantação significativa em bioensaios não aerados realizados em efluente secundário. Segundo esses autores, a aeração tem a importante função de homogeneização do sistema, exposição das algas à luz, possibilitando a realização da fotossíntese, aumento populacional e consumo dos nutrientes (Larsdotter, 2006). Resultado distinto foi obtido quando o nitrogênio foi quantificado na forma de NTK. Este diminuiu, como esperado, ao final dos experimentos aerado e não aerado.

A redução do fósforo em ambos os bioensaios, mas em maior intensidade no aerado, sugere que este nutriente foi consumido pelas microalgas. Este resultado está de acordo com outros da literatura, que mostraram redução do fosfato em sistemas de tratamento terciário fundamentado em microalgas (Lloyd et al., 2003; Bernal et al., 2008). Segundo de Godos et al. (2010), o mecanismo de redução do fósforo parece ser mais complexo do que a remoção de nitrogênio. O fósforo pode ser assimilado em excesso por várias microalgas e algumas bactérias (*Luxury consumption*) e armazenado na forma de grânulos de polifosfatos no interior das células (Larsdotter, 2006).

A composição taxonômica e a frequência de cada táxon encontrado ao longo do período experimental são apresentadas nas Tabelas 2 e 3 para os bioensaios aerado e não aerado, respectivamente. Foi observada dominância de algas verdes, classe Chlorophyceae em ambos os bioensaios, sendo que a espécie *Chlorella vulgaris* foi à espécie que se destacou durante todo o período experimental, chegando a mais de 99% de presença em ambos os bioensaios.

Outros táxons pertencentes à classe Chlorophyceae também foram observados, porém em abundância relativa de aproximadamente 1,8%, (*Chlamydomonas* sp.), e de cerca de 0,01 até aproximadamente 0,05% para os organismos *Scenedesmus acuminatus*, *Oocystis* sp., *Desmodesmus quadricauda* e *Desmodesmus* sp.

**Tabela 2** - Bioensaio aerado. Composição taxonômica e abundância relativa de microalgas por dia de amostragem reportada em porcentagem (%) dos táxons durante o período experimental, com amostragens nos dias 1, 5, 10, 15, 20, 25 e 30.

**Table 2** – Aerated bioassay. Microalgal taxonomic composition and relative abundance per day of sample report in percentage (%) of taxon during experimental period, with samples at days 1, 5, 10, 15, 20, 25 and 30.

<b>Grupo Taxonômico</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>
<b>Chlorophyceae</b>							
<i>Chlorella vulgaris</i>	97,90	62,50	99,70	99,60	99,60	99,60	99,30
<i>Chlamydomonas</i> sp.	-	1,83	0,18	0,33	0,23	0,23	0,47
<i>Desmodesmus quadricauda</i>	-	-	-	0,33	0,01	0,05	0,04
<i>Desmodesmus</i> sp.	-	-	-	0,01	-	0,01	-
<i>Oocystis</i> sp.	-	-	-	-	0,04	0,03	0,10
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	-	-	-	0,02	0,02	-	0,04
<b>Cyanophyceae</b>							
<i>Pseudanabaena</i> sp1	-	35,80	0,09	-	-	-	-
<i>Pseudanabaena</i> sp2	-	0,28	-	-	-	-	-
<i>Spirulina</i> sp.	-	0,71	-	-	-	-	-
<b>Chrysophyceae</b>							
Não identificada (spni)	-	-	-	0,01	0,03	0,06	0,01
<b>Euglenophyceae</b>							
<i>Euglena</i> sp.	2,10	-	-	-	-	-	-
<b>Bacillariophyceae</b>							
<i>Navicula</i> sp.	-	0,01	0,04	-	-	-	-

**Tabela 3** - Bioensaio não aerado. Composição taxonômica e abundância relativa de microalgas por dia de amostragem reportada em porcentagem (%) dos táxons durante o período experimental, com amostragens nos dias 1, 5, 10, 15, 20, 25 e 30.

**Table 3** – Non-aerated bioassay. Microalgal taxonomic composition and relative abundance per day of sample report in percentage (%) of taxon during experimental period, with samples at days 1, 5, 10, 15, 20, 25 and 30.

<b>Grupo Taxonômico</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>
<b>Chlorophyceae</b>							
<i>Chlorella vulgaris</i>	97,90	87,30	99,40	99,30	99,80	99,90	99,90
<i>Chlamydomonas</i> sp.	-	-	0,29	0,32	0,20	0,10	0,07
<i>Desmodesmus quadricauda</i>	-	-	-	-	-	-	0,01
<i>Oocystis</i> sp.	-	-	-	-	-	-	0,01
<b>Cyanophyceae</b>							
<i>Pseudanabaena</i> sp1	-	12,70	0,30	0,39	-	-	-
<b>Euglenophyceae</b>							
<i>Euglena</i> sp.	2,10	-	-	-	-	-	-

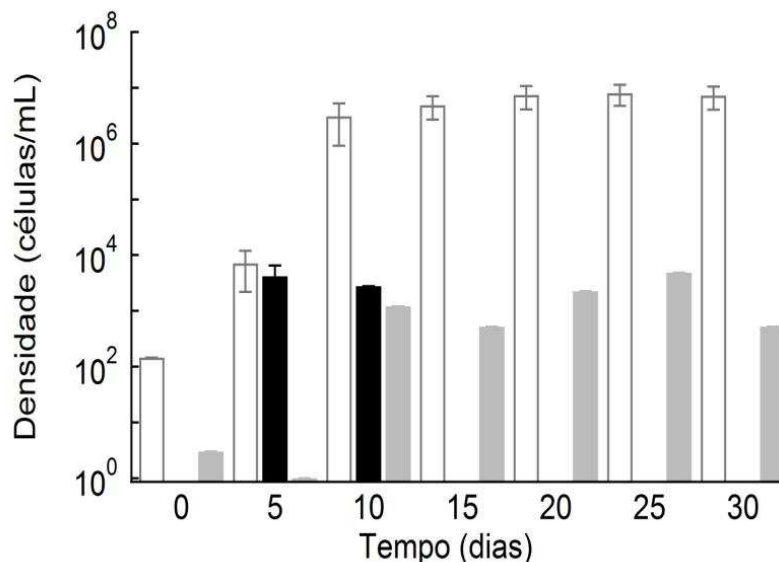
Microalgas da classe Cyanophyceae foram encontradas com frequências de no máximo 36%, sendo *Pseudanabaena* sp1 observada em ambos os bioensaios, enquanto *Pseudanabaena* sp2 e *Spirulina* sp somente no bioensaio aerado. A classe Euglenophyceae (*Euglena* sp) foi detectada somente no 1º dia de análise, em ambos os bioensaios, enquanto as classes Chrysophyceae e Bacillariophyceae

(*Navicula* sp) ocorreram somente no bioensaio aerado e em porcentagens reduzidas.

As Figuras 2 e 3 (densidade celular em função do tempo experimental) mostram que as maiores densidades foram da classe Chlorophyceae, a qual esteve presente durante todo o período experimental em ambos os bioensaios. A classe Cyanophyceae foi

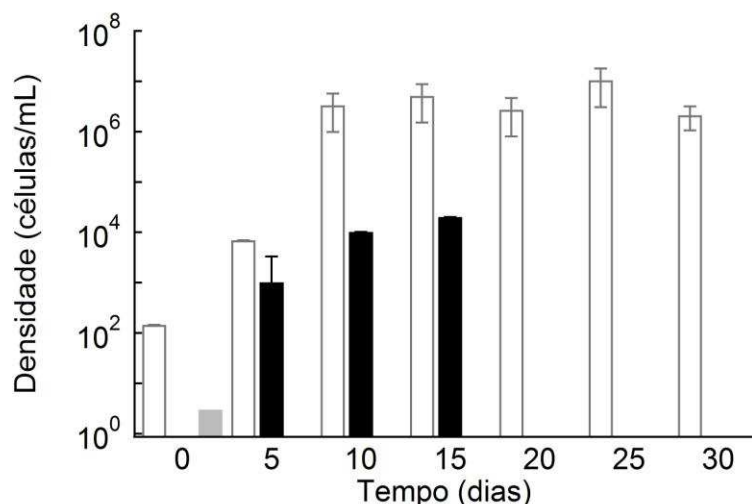
detectada a partir do 5º dia, permanecendo por mais tempo no bioensaio não aerado (15º dia) e não sendo detectada no bioensaio aerado a partir do 10º dia. As classes Chrysophyceae, Euglenophyceae e Bacillariophyceae estiveram presentes em quantidades mínimas e

por isso foram agrupadas dentro de outros grupos. A classe Euglenophyceae foi observada em ambos os bioensaios, enquanto as classes Chrysophyceae e Bacillariophyceae somente no bioensaio aerado.



**Figura 2** - Densidade de grupos fitoplanctônicos (células.mL<sup>-1</sup>) no bioensaio aerado ao longo do tempo experimental. Colunas brancas representam a classe Chlorophyceae, as pretas a classe Cyanophyceae, e as cinzas Outros Grupos (classes Chrysophyceae, Euglenophyceae e Bacillariophyceae).

**Figure 2** – Phytoplanktonic groups density (cells.mL<sup>-1</sup>) in aerated bioassay during experimental time. White bars are Chlorophyceae class, black bars are Cyanophyceae class, and gray bars are other groups (Chrysophyceae, Euglenophyceae and Bacillariophyceae classes).



**Figura 3** - Densidade de grupos fitoplanctônicos (células.mL<sup>-1</sup>) no bioensaio não aerado ao longo do tempo experimental. Colunas brancas representam a classe Chlorophyceae, as pretas a classe Cyanophyceae e a cinza Outros Grupos (classe Euglenophyceae).

**Figure 3** – Phytoplanktonic groups density (cells.mL<sup>-1</sup>) in non-aerated bioassay during experimental time. White bars are Chlorophyceae class, black bars are Cyanophyceae class, and gray bars are other groups (Euglenophyceae class).

A da comunidade fitoplanctônica mostrou que as algas observadas são típicas de ambientes com contaminação orgânica (Palmer, 1980;

König, 1984; König et al., 2002) e sua diversidade em efluentes é influenciada por fatores como carga orgânica, tempo de



retenção hidráulica, temperatura, pH e concentração de nutrientes no efluente (Hosetti & Frost, 1998; Kayombo et al., 2002; Zanotelli et al., 2002; Ahmadi et al., 2005). De acordo com Palmer (1969; 1980) e König (1984), a composição da comunidade fitoplanctônica está fortemente relacionada com a concentração de nutrientes e material orgânico. Conclusão similar pode-se obter do presente estudo, onde se observou maior diversidade de organismos fitoplanctônicos no bioensaio aerado, com menor concentração de nutrientes, enquanto que no bioensaio não aerado, apesar da maior concentração de nutrientes, houve menor diversidade.

Os resultados deste estudo mostraram um predomínio da classe Chlorophyceae em relação às demais, como também observado por Bernal et al. (2008) e Palmer (1969). Segundo Palmer (1969) isso se deve à resistência e adaptação das Chlorophyceae a ambientes eutróficos. No presente estudo, a espécie *Chlorella vulgaris* dominou em todos os bioensaios, com aproximadamente 99% de presença em relação às outras microalgas. Este resultado está de acordo com outros da literatura (Chu et al., 2009; Bhatnagar et al., 2010) e, por isso, essa microalga é referida por alguns autores como uma espécie autóctone de efluentes. A menor porcentagem encontrada para as outras microalgas também foi observada em outros trabalhos (König et al., 2002; Tharavathi & Hosetti, 2003; Shanthala et al., 2009). Shanthala et al. (2009) avaliaram a diversidade fitoplanctônica em lagoas de estabilização e obtiveram resultados similares; König et al. (2002) estudaram lagoas de estabilização no estado da Paraíba e também obtiveram baixa contribuição de táxons que não *Chlorella* sp. Segundo Salomoni (1997), organismos como os da espécie *Chlorella vulgaris*, que sobrevivem em ambientes ricos em nutrientes e materiais orgânicos, apresentam características adaptativas, como o tamanho reduzido e alta taxa de crescimento. Sabe-se que quanto menor o tamanho, maior é a eficiência na absorção e assimilação de nutrientes (r-estrategistas) devido à maior razão superfície/volume. Há evidências de que o trifosfato de sódio, constituinte do detergente sintético e presente em esgotos domésticos,

estimule o crescimento de *Chlorella vulgaris* (Palmer, 1980; Granado, 2004). Além disso, estudos em laboratório têm demonstrado que essa microalga produz um antibiótico, a clorelina, com ação bactericida, capaz de inibir o crescimento, a respiração e a fotossíntese de outras algas, além de alterar o metabolismo de protozoários, moluscos, crustáceos e peixes (Pratt, 1944; Ryther, 1954).

A classe Cyanophyceae é resistente à poluição, a ambientes anaeróbios e efluentes com alta carga orgânica (Ahmadi et al., 2005; Komárek & Anagnostidis, 2005; Tucci et al., 2006; Escorihuela et al., 2007). A presença de apenas cerca de 37% pode estar relacionada à elevada turbidez, que desfavorece o grupo das Cyanophyceae, principalmente daquelas fixadoras de N<sub>2</sub> (Havens et al., 2004). A razão N:P também é um aspecto a ser considerado quando se discute a presença/ausência desse grupo de algas. Segundo Pearsall (1930) e Arauzo et al. (2000), a razão N:P em efluentes anaeróbios não é favorável às Cyanophyceae. De acordo com Havens et al. (2004), razões N:P < 29 favorecem o domínio de organismos da classe Cyanophyceae, enquanto que razões N:P > 29 favorecem outras classes. Considerando os valores de nitrogênio total (30,4 mg/L) e fósforo total (2,4 mg/L) quantificados na amostra inicial, imediatamente antes do início dos experimentos, a razão N:P no efluente anaeróbio deste estudo foi de 12,7, o que poderia ser considerado favorável às Cyanophyceae. No entanto, o observado foi o domínio da classe Chlorophyceae. Em nosso caso, a turbidez elevada do efluente, e não a razão N:P pode ter inibido o desenvolvimento das Cyanophyceae. Farina (2011), estudando a dinâmica populacional de microalgas em efluente secundário de tratamento aeróbio, encontrou dominância de Cyanophyceae, além de maior variedade de grupos fitoplanctônicos do que o observado no presente estudo. Segundo esse autor, isso foi uma consequência das baixas razões N/P encontradas nos efluentes de tratamento aeróbio, fato também observado por Ahmadi et al. (2005) e Bernal et al. (2008). *Pseudanabaena* sp. foi o gênero de cianobactérias mais abundante no presente trabalho e foi visualizado em ambos os

bioensaios.

No bioensaio aerado, a biomassa de Bacillariophyceae e Chrysophyceae foi baixa em relação às demais classes, principalmente Chlorophyceae assim como nos trabalhos de Sukias et al. (2001), de Paul (2002), Tharavathi & Hosetti (2003) e Bernal et al. (2008), que também obtiveram raros organismos dessas classes. Como reportado por Roche (1995), os indivíduos da classe Euglenophyceae são escassos em efluentes com pouca carga orgânica e a presença do gênero *Euglena* sp. no primeiro dia de amostragem, tanto no bioensaio aerado como no não aerado, pode ser reflexo da matéria orgânica residual presente no efluente, já que essas algas são mixotróficas (Tarlan et al., 2002).

## CONCLUSÃO

Do presente estudo, conclui-se que o efluente de tratamento anaeróbico tanto aerado quanto não aerado suportou o crescimento fitoplancônico, principalmente da classe Chlorophyceae, em especial da espécie *Chlorella vulgaris*, ao mesmo tempo em que ocorreu a redução da concentração de nutrientes, com exceção do bioensaio não aerado. Isso sugere que efluentes de ETE com sistema anaeróbico de tratamento de esgoto possuem elevado potencial para suportar o crescimento de microalgas. Com isso, cria-se a possibilidade de produção de biomassa de microalgas com custo reduzido e a utilização dessa biomassa para diversas aplicações, desde que não seja necessária a pureza do produto final. Utilizando-se o resíduo para gerar biomassa algal, a diminuição do potencial de eutrofização do efluente será obtida e custos de produção poderão ser simultaneamente reduzidos.

## REFERÊNCIAS

- ABELIOVICH, A. 2004. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Ed. Richmond, A. Blackwell Publishing. 566p.
- AHMADI, A.; RIAHI, H.; NOORI, M. Studies of the effects of environmental factors on the seasonal change of phytoplankton population in municipal wastewater stabilization ponds. **Toxicol Environ Chem**, v. 87, n.4, p. 543-550, 2005.
- AKSU, Z. 1998. Biosorption of Heavy Metals by Microalgae in Batch and Continuous Systems. In: WONG, Y. S. E.; TAM, N. F. Y. **Wastewater Treatment with Algae**. Springer-Verlag, 3ª Ed., p. 37-54.
- ALBUQUERQUE, A.; MAKINIA, J.; PAGILLA, K. Impact of aeration conditions on the removal of low concentrations of nitrogen in a tertiary partially aerated biological filter. **EcolEng**, v. 44, p. 44-52, 2012.
- AMENGUAL-MORRO, C.; NIELL, G. M.; MARTÍNEZ-TABERNER, A. Phytoplankton as bioindicator for waste stabilization ponds. **J Environ Manage**, v. 95, p. 571-576, 2012.
- ANAGNOSTIDIS, K.; KOMÁREK, J. Modern approach to the classification system of cyanophytes, 4 – Nostocales. **ArchHydrobiol**, v. 80, n. 1-4, p. 237-472, 1989.
- APHA. 2005. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th Ed.. American Public Health Association, Washington, DC.
- ARAUZO, M.; COLMENAREJO, M. F.; MARTÍNEZ, E.; GARCÍA, M. G. The role of algae in a deep wastewater self regeneration pond. **Water Res**, v. 34, n. 14, p. 3666-3674, 2000.
- ARCEIVALA, S. J. 1981. **Wastewater Treatment and Disposal**. Marcel Dekker, NY, USA.
- BECKER, E. W. 1994. **Microalgae, Biotechnology and Microbiology**. Cambridge. Cambridge University Press.
- BERNAL, C. C.; VÁZQUEZ, G.; QUINTAL, I. B.; BUSSY, A. L. Microalgal dynamics in batch reactors for municipal wastewater treatment containing dairy sewage water. **Water Air Soil Poll**, v. 190, p. 259-270, 2008.
- BHATNAGAR, A.; BHATNAGAR, M.; CHINNASAMY, S. *Chlorella minutissima* – a promising fuel alga for cultivation in municipal wastewaters. **Appl Biochem Biotech**, v. 161, p. 523-536, 2010.
- BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. 2005. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil. Chave para identificação e descrições**. Rima, 489p.

- BOROWITZKA, M.A. 1998. **Limits to growth in wastewater treatment with algae**. Womg, Y.S. and Tam, N.F.Y. Editors. Springer Verlag.
- CHI, Z.; ZHENG, Y.; JIANG, A.; CHEN, S. Lipid production by culturing oleaginous yeast and algae with food waste and municipal wastewater in an integrated process. **Appl Biochem Biotech**, v. 165, p. 442-453, 2011.
- CHO, S.; LUONG, T. T.; LEE, D.; OH, Y. K.; LEE, T. Reuse of effluent water from municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technol**, v. 102, p. 8639-8645, 2011.
- CHU, W. L.; SEE, Y.C.; PHANG, S. M. Use of immobilized *Chlorella vulgaris* for the removal of colour from textile dyes. **J Appl Phycol**, v. 21, p. 641-648, 2009.
- DE GODOS, I.; VARGAS, V. A.; BLANCO, S.; GONZALES, B. C.; SOTO, R.; GARCIA-ENCINA, P. A.; BECARES, E.; MUNOZ, R. A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. **Bioresources Technol**, v. 101, p. 5150-5158, 2010.
- DE PAUL, M. 2002. Caracterización biológica de lagunas de estabilización (Jujuy) com diferentes tiempos de retención hidráulico. In: **International development and appropriate Technologies for sewage management and environment**. Buenos Aires: AIDID, Argentinian Association of Sanitation Engineering and Environmental Sciences.
- ESCORIHUELA, A.; NÚÑEZ, M.; ROSALES, N.; MORA, R.; MORALES, E. Microalgas presentes em uma laguna para pulimento de efluentes de uma planta de tratamento de águas residuais urbanas. **Rev Fac Agron (LUZ)**, v. 24, n. 1, p. 225-230, 2007.
- FARINA, V. O. A. 2011. **Dinâmica populacional de microalgas em efluente secundário de ETE**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual Paulista, Assis, SP.
- FONTES, A. G.; VARGAS, M. A.; MORENO, J.; GUERRERO, M. G.; LOSADA, M. Factors affecting the production of biomass by a nitrogen-fixing blue-green alga in outdoor culture. **Biomass**, v. 13, p. 33-43, 1987.
- GRANADO, D. C. 2004. **Variações nictemerai e sazonais na estrutura da comunidade fitoplanctônica num sistema de lagoas de estabilização (Novo Horizonte, SP)**. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 128p, 2004.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontol Elect**, v. 4, n.1, p. 9.
- HAMMOUDA, O.; GABER, A.; ABDEL-RAOUF, N. 1995. Microalgae and wastewater treatment. **Ecotox Environ Safe**, v. 31, p. 205-210.
- HARRISON, R.M. 1996. **Pollution: causes, effects and control**. 3<sup>a</sup> Ed. The Royal Society of Chemistry, 480p.
- HAVENS, K. E.; JAMES, R. T.; EAST, T. L.; SMITH, V. H. N:P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. **Environ Pollut**, v. 122, p. 379-390, 2004.
- HOFFMANN, J. P. Wastewater treatment with suspended and non suspended algae. **J Phycol**, v. 34, p. 757-753, 1998.
- HOSETTI, B.; FROST, S. A review of the control of biological water treatment in stabilization ponds. **Crit Rev Environ Scien Technol**, v. 28, n. 2, p. 193-218, 1998.
- KASSAB, G.; HALALSHEH, M.; KLAPWIJK, A.; FAYYAD, M.; VAN LIER, J.B. 2010. Sequential anaerobic-aerobic treatment for domestic wastewater - A review. **Bioresource Technology**, 101: 3299-3310.
- KAYOMBO, S.; MBWETTE, T. S. A.; MAYO, A. W.; KATIMA, J. H. Y.; JOGENSEN, S. E. Diurnal cycles of variation of physical-chemical parameters in waste stabilization ponds. **EcolEng**, v. 18, p. 287-291, 2002.
- KISO, Y.; JUNG, Y. J.; PARK, M. S.; WANG, W.; SHIMASE, M.; YAMADA, T.; MIN, K. S. Coupling of sequencing batch reactor and mesh filtration: operational parameters and wastewater treatment performance. **Water Res**, v. 39, p. 4887-4898, 2005.
- KOMÁREK, J.; FOTT, B. 1983. **Das phytoplankton des Süßwasser. Systematik und Biologie. Chlorophyceae, Chlorococcales**. Stuttgart, 1044p.
- KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. 1999. Cloococcales. In: Ettl, A., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D. (Eds.) **Süßwasserflora von Mitteleuropa**. Bd 19. Stuttgart, G. Fischer Verlag, 548p.
- KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Oscillatoriales. In: B Büdel, G. Gartner, L. Krienitz and M. Schagel (Hrsg.). **Süßwasserflora von Mitteleuropa**. Bd v. 19, n. 2, 758p, 2005.
- KÖNIG, A. 1984. **Ecophysiological studies on some algae and bacteria of waste stabilization ponds**. PhD Thesis. University of Liverpool. Liverpool.
- KÖNIG, A. 1990. Biologia das lagoas. Algas. In: Mendonça, S.R. **Lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos**. João Pessoa, 385p.

- KÖNIG, A.; CEBALLOS, B. S. O.; ALMEIDA, M. V. A. Observações sobre a população algal em efluentes de lagoas de estabilização em escala real no estado da Paraíba. In: **Anais do XXVIII Congresso Internacional de Engenharia Sanitária y Ambiental**. Cancun, México, 2002. Anais...
- LARSDOTTER, K. Wastewater treatment with microalgae – a literature review. **VATTEN**, v. 62, p. 31-38, 2006.
- LLOYD, B. J.; LEITHER, A. R.; VORKAS, C. A.; GUGANESHARAJAH, R. K. Underperformance and rehabilitation strategy for waste stabilization ponds in Mexico. **Water Sci Technol**, v. 48, n. 2, p. 35-43, 2003.
- MARA, D.; PEARSON, H. 1998. **Lagoon technology international. Design manual for waste stabilization ponds in Mediterranean countries**. England, Leeds.
- MCGRUFF, E. C.; MCKINNEY, R. E. The removal of nutrients and organics by activated algae. **Water Res**, v. 6, p. 1155-1164, 1972.
- METCALF, E.; EDDY, E. 2003. **Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse**, McGraw-Hill, Inc.
- OLGUÍN, E. J. Dual purpose microalgae-bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a Biorefinery. **Biotechnol Adv**, v. 30, p. 1031-1046, 2012.
- OSWALD, W. J. Large scale culture systems: engineering aspects. In: BOROWITZKA, M.; BOROWITZKA, L.; editors. **Microalgal Biotechnology**. Cambridge: Cambridge University, p. 357-92, 1988a.
- OSWALD, W. J. Microalgae and wastewater treatment. In: BOROWITZKA, L. J. (Ed). **Microalgal Biotechnology**. Cambridge University Press, 12, pp. 305-328, 1988b.
- PALMER, C. M. Composite Rating of Algae Tolerating Organic Pollution. **J Phycol**, v. 5, p. 78-82, 1969.
- PALMER, C. M. The identification, significance, and control of algae in water supplies and in polluted water. In: **Algae and Water Pollution**. Castle House Publications, UK, 123p., 1980.
- PAREDES, D.; KUSCHK, P.; MBWETTE, T.; STANGE, F.; MÜLLER, R.; KÖSER, H. New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment – a review. **Eng Life Sci**, v. 7, n. 1, p. 13-25, 2007.
- PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technol**, v. 102, p. 35-42, 2011.
- PEARSALL, W. H. Phytoplankton of English lakes, I. The proportion in the water of some dissolved substances of biological importance. **J Ecol**, v. 18, n. 2, p. 306-320, 1930.
- PEARSON, H. W. Estimation of chlorophyll-a as a measure of algae biomass in waste stabilization ponds. In: **Proceedings of the regional Seminar on the Waste Stabilization Pond Research**, 3-7 March. Pan American Center for Sanitary Engineering and Environment Sciences, Lima, 1986.
- PRATT, R. Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella*. **Science**, v. 99, p. 351-352, 1944.
- RAVEN, J. A. 1988. **Limits to growth, in Micro-algal biotechnology**, Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J. Editors. Cambridge University Press: Cambridge. pp. 331-356.
- RAWAT, I.; KUMAR, R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. **Appl Energ**, v. 88, p. 3411-3424, 2011.
- RAY, R.; HENSHAW, P.; BISWAS, N. Effects of reduced aeration in a biological aerated filter. **Can J Civil Eng**, v. 39, p. 432-438, 2012.
- RICHMOND, A. 2004. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Science Ltd. Blackwell.
- ROCHE, K. F. Growth potential of *Daphnia magna* Straus in the water of dairy waste stabilization ponds. **Water Res**, v. 32, p. 1352-1328, 1995.
- RODRIGUES, A. Q.; VAN HAANDEL, A.; CAVALCANTI, P. F. F. Caracterização das bactérias heterotróficas de sistemas de lodo ativado, geradas a partir de esgoto bruto e esgoto digerido. In: **23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, Campo Grande, 2005. Anais...
- RYTHER, J. H. Inhibitory effects of phytoplankton upon the feeding of *Daphniamagna* with reference to growth, reproduction and survival. **Ecology**, v. 35, p. 522-533, 1954.
- SALOMONI, S. E. 1997. **Aspectos da limnologia e população costeiras Marcelino, Peixoto e Pinguela (Osório, RS): uma abordagem baseada no fitoplâncton**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ecologia. Instituto de Biociências. UFRGS. Porto Alegre, RS, 141p, 1997.
- SHANTHALA, M.; HOSMANI, S. P.; HOSETTI, B. B. Diversity of phytoplankton in a waste stabilization pond at Shimoga Town, Karnataka State, India. **Environ Monit Assess**, v. 151, p. 437-443, 2009.

- SUKIAS, J. P. S.; TANNER, C. C.; DAVIES-COLLEY, R. J.; NAGELS, J. W.; WOLTERS, R. Algal abundance, organic matter and physic-chemical characteristics of dairy farm facultative ponds: implications for treatment performance. **New Zel J Agr Res**, v. 44, n.4, p. 279-296, 2001.
- TAPPE, W.; LAVERMANN, A.; BOHLAND, M.; BRASTER, M.; RITTERSHAUS, S.; GROENEWEG, J.; VAN VERSEVELD, H. W. Maintenance energy demand and starvation recovery dynamics of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi* cultivated in a retentostat with complete biomass retention. **Appl Environ Microbiol**, v. 65, p. 2471-2477, 1999.
- TARLAN, E.; DILEK, F.B.; YETIS, U. 2002. Effectiveness of algae in the treatment of a wood-based pulp and paper industry wastewater. **Bioresource Technology**, 8: 1-5.
- THARAVATHI, N. C.; HOSETTI, B. B. Biodiversity of algae and protozoa in a natural waste stabilization pond: a field study. **J Environ Biol**, v. 24, n. 2, p. 193-199, 2003.
- TUCCI, A.; SANT'ANNA, C. L.; GENTIL, R. G.; DE PAIVA-AZEVEDO, M. T. Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico. **Hoehnea**, v. 33, n. 2, p. 147-175, 2006.
- UTERMÖHL, H. Zur vervollkommnung der quantitative phytoplankton-methodik. **Mitt Internat Ver Limnol**, v. 9, p. 1-38, 1958.
- VAN DEN HOEK, C., MANN, D.G., JAHNS, H.M. 2005. **Algae: an introduction to phycology**. Cambridge University Press, 627p.
- VILLAVERDE, S. Recent developments on biological nutrient removal processes for wastewater treatment. **Rev Environ Sci Biotechnol**, v. 3, p. 171-183, 2004.
- VON SPERLING, M. 1996. **Princípio do tratamento biológico de águas residuárias – lagoas de estabilização**. v. 3, DESA-UFMG, Belo Horizonte.
- WETZEL, R. G., LIKENS, G. E. , 1991. **Limnological analysis**. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 357p.
- WIESMANN, U.; CHOI, I. S.; DOMBROWSKI, E. M. 2007. **Fundamentals of biological wastewater treatment**. Weinheim: Wiley, 361pp.
- WOOD, B. J. B.; GRIMSON, P. H. K.; GERMAN, J. B.; TURNER, M. Photoheterotrophy in the production of phytoplankton organisms. **J Biotechnol**, v. 70, n.1-3, p. 175-183, 1999.
- ZANOTELLI, C.; PERES, A.; PERDOMO, C.; RIBEIRO, R. Identificação de algas e clorofila a em lagoas facultativas no tratamento de dejetos suínos. In: **Environmental Challenges of the Globalization**. Vitoria: AIDIS, Brazilian Association of Sanitation and Environmental Engineering, 2002.
- ZHANG, C. M.; MAO, Z. G.; WANG, X.; ZHANG, J. H.; SUN, F. B.; TANG, L. Effective ethanol production by reutilizing waste distillage anaerobic digestion effluent in an integrated fermentation process coupled with both ethanol and methane fermentations. **Bioprocess Biosyst Eng**, v. 33, p. 1067-1075, 2010.
- ZHANG, M.; LAWLOR, P. G.; WU, G.; LYNCH, B.; ZHAN, X. Partial nitrification and nutrient removal in intermittently aerated sequencing batch reactors treating separated digestate liquid after anaerobic digestion of pig manure. **Bioprocess Biosyst Eng**, v. 34, p. 1049-1056, 2011.