



Influência da temperatura na remoção de fosfato por microalgas em biorreatores heterotróficos

(<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.856>)

Juliana Guerra Vieira¹; Eduardo Jacob-Lopes²; Adriana Gonçalves da Silva Manetti¹; Maria Isabel Queiroz¹

¹Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande (FURG),
Rio Grande, RS, Brasil,

e-mails: juguerravieira@uol.com.br, didialimentos@yahoo.com.br; mariaisabel.queiroz@mailcity.com,

²Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos,
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil,
e-mail: jacoblopes@pq.cnpq.br

RESUMO

Neste trabalho, a eficiência da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nägeli* em remover heterotroficamente fosfato total dissolvido do efluente do processamento de laticínios foi avaliada. Os experimentos foram conduzidos em biorreatores operados descontinuamente, alimentados com 4,5 L de efluente. As condições experimentais foram: concentração celular inicial de 0,2 g/L, pH ajustado a 7,6, reator isotérmico operando em temperaturas de 10, 20 e 30°C, ausência de luminosidade e aeração contínua de 1 VVM. Os resultados mostraram que a remoção de fosfato é fortemente dependente da temperatura do processo. A cianobactéria *A. microscopica Nägeli* foi efetiva na remoção de fosfato, alcançando taxas de remoção de 3,77 mg/L.h, que refletiram em conversões de 98,4% em tempos de detenção hidráulica de 24 h.

Palavras-chave: microalgas, biorreator heterotrófico, fosfato, efluente de laticínios.

Influence of temperature in phosphate removal by microalgae in heterotrophic bioreactors

ABSTRACT

The removal of total dissolved phosphate by the cyanobacteria *Aphanothece microscopica Nägeli* cultivated heterotrophically in dairy processing wastewater was investigated in this work. The experiments were carried out in bioreactors operating in a batch mode, fed with 4.5 L of wastewater. The experimental conditions were as follows: initial cell concentration of 0.2 g/L, pH adjusted to 7.6, isothermal reactor operating at temperatures of 10, 20 and 30°C with absence of light and continuous aeration of 1 VVM. The results showed that phosphate removal is strongly dependent on process temperature. *A. microscopica Nägeli* was effective in the removal phosphate achieving removal rates of 3.77 mg/L.h, which reflected in the conversion of 98.4% in hydraulic detention times of 24 h.

Keywords: microalgae, heterotrophic bioreactor, phosphate, dairy processing wastewater.

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de células de microalgas em zonas afóticas, associado à manutenção destas estruturas celulares nos períodos de escuro, durante o fotoperíodo diário, indica a possibilidade de utilizar tecnologicamente rotas metabólicas heterotróficas para o cultivo microalgal (Perez-Garcia et al., 2011).

Todos os micro-organismos, incluindo as microalgas utilizam o mesmo metabolismo respiratório. Com algumas pequenas diferenças, as microalgas possuem grande similaridade deste metabolismo quando comparado às plantas superiores. É impossível, no entanto, especificar substratos específicos que podem ser preferencialmente utilizados por uma espécie particular de microalga (Smith, 1982).

Durante a respiração, ao contrário da fotossíntese, oxigênio é consumido, com paralela produção de CO₂, sendo que a taxa respiratória dos substratos orgânicos está intimamente orientada para o crescimento e divisões celulares. O metabolismo respiratório em microalgas desempenha duas funções principais: serve como fonte exclusiva de energia para manutenção e biossíntese e fornece os blocos construtores de carbono para a biossíntese (Geider e Osborne, 1989; Jacob-Lopes et al., 2010).

O desenvolvimento do cultivo em completo escuro elimina diversas desvantagens dos biorreatores fotossintéticos, principalmente no que se refere ao aporte de energia luminosa, possibilitando o uso de reatores convencionais como os reatores agitados mecanicamente e coluna de bolhas (Queiroz et al., 2011).

Nestas condições as fontes orgânicas exógenas de carbono podem ser obtidas através de águas residuárias industriais. Nesse caso específico é possível direcionar a conversão de poluentes como matéria orgânica, nitrogênio e fósforo em biomoléculas de valor agregado. Por outro lado, se considerarmos apenas as características de tratamento de resíduos industriais, a principal vantagem do uso de biorreatores heterotróficos com microalgas está relacionada com a conversão simultânea de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, em uma única etapa, reduzindo custos capitais e operacionais comumente associados às formas convencionais de tratamento (Queiroz et al., 2007).

A remoção de fosfato por microalgas é uma tecnologia em potencial para a mitigação deste poluente eutrofizante. Diversos sistemas têm sido desenvolvidos considerando o metabolismo fotossintético destes organismos em lagoas de alta taxa (Phang et al., 2000; Powell et al., 2006, 2008, 2009), além de outras configurações de fotobiorreatores (Gonzales et al., 1997; Singh e Thomas, 2012). Estudos restritos, no entanto, têm sido direcionados para elucidar o potencial do metabolismo heterotrófico de microalgas para esta finalidade (Devi et al., 2012).

O crescimento de microalgas heterotroficamente consome fósforo como um elemento essencial requerido na constituição celular de fosfolipídeos, nucleotídeos e ácidos nucleicos. Tipicamente as células destes organismos contêm aproximadamente 1% de fósforo em base seca, embora em certas condições, haja evidências que as estes organismos sejam capazes de retirar do meio quantidades excedentes de fósforo para posterior utilização. Este fósforo extra é estocado na forma de fosfato para uso como recurso interno quando as condições externas de fósforo são limitantes (Miyachi et al., 1964).

Entre as inúmeras variáveis que controlam esse processo, a temperatura parece ser o maior limitante, já que é uma variável geográfica que afeta a taxa metabólica de todos os processos biológicos (Sakamoto et al., 1997). Adicionalmente, as taxas de remoção biológica de fósforo estão relacionadas com a taxa de difusão através da camada limite que circunda a célula e com a especiação iônica do fosfato, já que o fosfato total dissolvido é

resultado do somatório das espécies reativas, ácido-hidrolisáveis e orgânicas (Cembella et al., 1983; Spivakov et al., 1999).

Em face disto, este trabalho investiga o efeito da temperatura na remoção de fosfato por microalgas em biorreatores heterotróficos. Embora já exista um entendimento destas dinâmicas em sistemas fotossintéticos, este trabalho vai auxiliar a definir estas transformações em sistemas no completo escuro.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1. Micro-organismo e condições de cultivo

Uma monocultura de *Aphanothece microscopica Nägeli* (RSMAN92), originalmente isolada da Lagoa dos Patos, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil (32°01'S - 52°05'W) foi utilizada. As culturas foram propagadas e mantidas em meio sintético BGN (Rippka et al., 1979). As condições de manutenção usadas foram 25°C, intensidade luminosa de 15 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 12 h.

2.2. Água residuária

O efluente do processamento de laticínios foi coletado no tanque de equalização do sistema de tratamento de efluente de uma indústria localizada em Pelotas, RS. As amostras foram coletadas por um período de 12 meses, e caracterizadas quando ao pH, demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total (NTK), ácidos voláteis totais (AVT), alcalinidade (ALC), óleos e graxas (OG), sólidos totais (ST), sólidos fixos (SF), sólidos suspensos (SS), sólidos voláteis (SV) e fósforo total (PO_4^{-3}), segundo metodologia proposta por APHA (2005). As razões C/N e N/P foram determinadas a partir das concentrações de DQO, NTK e PO_4^{-3} . Os resultados da caracterização do efluente são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização do efluente de laticínios em um período de 12 meses.

Parâmetro	Mínimo	Máximo	Média	CV (%)
pH	7,1	9,6	9,1	10,5
DQO	400,0	780,0	566,3	25,5
NTK	3,0	55,1	30,6	54,2
NH_4^+	3,1	10,5	7,0	38,2
PO_4^{-3}	16,3	23,9	21,9	12,8
AVT	20,0	444,0	213,3	83,0
ALC	30,0	1550,0	656,6	105,5
OG	31,1	1609,0	431,0	138,6
ST	2155,0	3725,0	2608,0	23,1
SF	595,0	2402,5	1290,4	56,7
SV	565,0	2120,0	1317,9	46,4
SS	322,5	1115,0	691,6	47,1
C/N	9,6	23,6	16,8	32,6
N/P	1,2	2,4	1,6	28,7

2.3. Biorreator

O aparato experimental (Figura 1) foi constituído de um biorreator do tipo coluna de bolhas, construído em PVC de 4 mm de espessura, diâmetro interno de 10 cm, altura de 100 cm e 4,5 L de volume de trabalho. O sistema de dispersão de gases do reator consistiu em um difusor de ar de 1,5 cm localizado no centro da base da coluna.

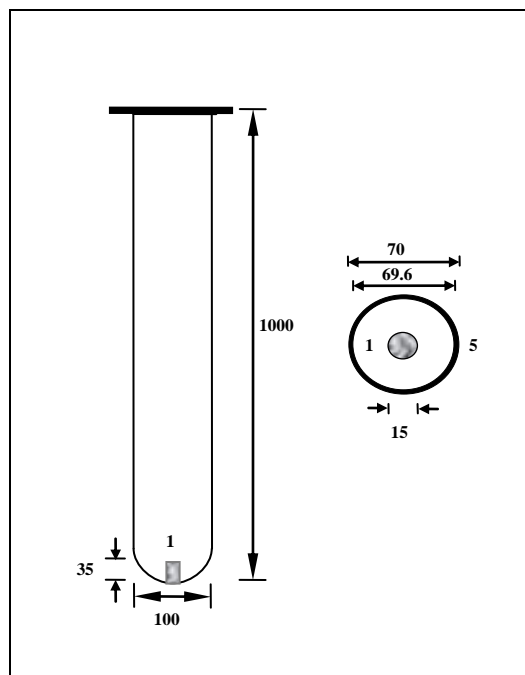


Figura 1. Diagrama esquemático do biorreator heterotrófico.

2.4. Obtenção dos dados cinéticos

Os experimentos foram conduzidos em um biorreator operando em batelada, alimentados com 4,5 L de efluente, pH ajustado a 7,6, 0,2 g/L de inóculo, temperaturas de 10, 20 e 30°C, ausência de luminosidade, e aeração contínua de 1VVM (volume de ar por volume de efluente por minuto). Os experimentos foram em triplicata e os dados cinéticos referem-se a uma média de 6 repetições.

2.5. Parâmetros cinéticos

Para cada temperatura avaliada um modelo cinético de ordem zero foi ajustado aos dados experimentais de fósforo total dissolvido (Equação 1).

$$C = C_0 - k.t \quad [1]$$

em que:

C_0 é a concentração inicial de fosfato (mg/L), C é a concentração final de fosfato (mg/L), k é a constante da velocidade de reação (h^{-1}) e t é o tempo de reação (h).

O efeito da temperatura sobre a constante da taxa de reação em relação a um padrão temperatura (293 K) pode ser expressa pela equação de Arrhenius modificada, conforme a Equação 2 (Sözen et al., 1996):

$$r_T = r_{293} \times \theta^{(T-293)} \quad [2]$$

em que:

o r_T é a taxa de reação na temperatura $T=T$ (mg/L.h), r_{293} é a taxa de reação na temperatura de 293K (mg/L.h), θ é o coeficiente de temperatura e T é a temperatura da reação (K).

A energia de ativação da reação foi determinada graficamente por meio do logaritmo natural da equação de Arrhenius, conforme indicado pela Equação 3:

$$\ln r_T = \frac{-E_a}{RT} + \ln A \quad [3]$$

em que:

A é o fator de frequência para a reação, R é a constante universal dos gases (kJ/mol.k), T é a temperatura (K) e E_a é a energia de ativação (kJ/mol).

2.6. Análise estatística

Os dados cinéticos foram determinados mediante o auxílio de técnicas de estatística multivariada, expresso por análises de regressão. A diferenciação das condições testadas foi avaliada por análise de variância (ANOVA). Ambas as análises realizadas no software Statistica 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura é um dos mais importantes fatores para a seleção de condições operacionais de biorreações, já que os micro-organismos não possuem mecanismos para controlar sua temperatura interna. Desta forma, a temperatura interna da célula é determinada pela temperatura externa do ambiente (Tomaselli et al., 1988). A Tabela 2 apresenta as constantes cinéticas para o consumo de fosfato total em biorreatores heterotróficos por microalgas. Na faixa de temperatura avaliada, verificou-se que o consumo de fosfato está fortemente relacionado com a temperatura do biorreator, com máximas taxas de remoção na ordem de 3,77 mg/L.h a 30°C.

A aderência do modelo cinético de ordem zero aos dados experimentais, comprovada pelos elevados coeficientes de determinação, sugere que o consumo de fosfato por *Aphanothece microscopica Nægeli* em regime heterotrófico independe da concentração de fósforo no efluente. Em termos de eficiência de remoção, para um tempo de detenção hidráulica de 24h, observaram-se índices de 29,1, 89,1 e 98,4 % para as temperaturas de 10, 20 e 30°C, respectivamente. Comparativamente Gonzalez et al. (1997) reportaram máximas taxas de remoção de fosfato em efluente do processamento de laticínios de 0,30 mg/L.h em biorreatores fotossintéticos de geometria cilíndrica com a microalga *Chlorella vulgaris*. Adicionalmente, Phang et al. (2000) verificaram máximas taxas de remoção de fosfato na ordem de 0,06mg/L.h em efluente de fecularia em lagoas de alta taxa com a cianobactéria *Spirulina Platensis*. Singh e Thomas (2012) obtiveram taxas de remoção de 0,03mg/L.h de fosfato de efluente doméstico em fotorreator de membranas com *Chlorella vulgaris*. Estes estudos consideraram exclusivamente rotas fotossintéticas para a remoção biológica de fosfato. Por outro lado, Devi et al. (2012) citam taxas de remoção de fosfato em efluente doméstico de 1,0 mg/L.h por um consórcio de microlgas em um biorreator heterotrófico.

Apesar da diversidade dos sistemas comparados, pode-se constatar que o uso de microalgas em biorreatores heterotróficos apresenta melhor desempenho na remoção biológica das diferentes formas de fósforo presente nas águas residuárias.

Tabela 2. Constantes cinéticas para consumo de fosfato em biorreatores heterotróficos.

Temperatura (°C)	C ₀ (mg/L)	C (mg/L)	R ²	k (h ⁻¹)	r (mg/L.h)	ER (%)
10	19,3±0,57	13,7±0,41	0,98±0,04	1,09 ^a ±0,05	1,09 ^a ±0,05	29,1 ^a ±1,45
20	20,5±0,51	2,20±0,01	0,96±0,02	2,45 ^b ±0,12	2,45 ^b ±0,12	89,1 ^b ±2,67
30	19,4±0,62	0,31±0,01	0,94±0,03	3,77 ^c ±0,22	3,77 ^c ±0,22	98,4 ^c ±1,47

Nota: letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

Em relação à temperatura, o critério de projeto mais utilizado no dimensionamento de biorreatores, considera a temperatura média do ar no mês mais frio. O uso deste parâmetro é um critério de segurança, já que a temperatura do fluido estará um pouco mais elevada. A seleção do período frio ocorre devido à velocidade das reações bioquímicas, que são críticas no funcionamento do biorreator (Tchobanoglous et al., 2003). Se considerarmos a região em análise, os dados climatológicos históricos de temperatura demonstram mínimas temperaturas médias de 10°C. Se considerarmos os valores médios anuais, a temperatura média situa-se em 19,5°C, com máximos valores médios de 30°C (INMET, 2011). Com base nestes valores de temperatura, o processo foi avaliado. O efeito da temperatura nas taxas de remoção de fosfato pode ser melhor elucidado através da aplicação da equação de Arrhenius aos dados experimentais. A Tabela 3 apresenta os coeficientes de temperatura e a energia de ativação para a remoção de fosfato por microalgas. Os coeficientes de temperatura obtidos foram de $\theta=1,08$ para a faixa de temperatura de 10-20°C e $\theta=1,04$ para a faixa 20-30°C. Estes valores indicam que o efeito da temperatura é mais sensível na faixa de baixas temperaturas quando comparado à faixa mais elevada. Segundo Sawyer e McCarty (1978) os coeficientes de temperatura podem variar substancialmente dentro de uma faixa reduzida de temperatura. Segundo estes autores, os valores de θ são usualmente adotados para a correção das diversas reações envolvidas no tratamento de efluentes.

Adicionalmente, uma energia de ativação de 8,86 kJ/mol foi determinada para a faixa de temperatura de 10 a 30°C. Estes coeficientes são particularmente úteis no projeto de reatores, já que correlacionam a taxa de remoção com a temperatura de operação. Desta forma, a diminuição da temperatura implica na diminuição da constante da taxa de remoção (k), e conseqüentemente no aumento do tempo de detenção hidráulica do sistema, para que não haja alterações na eficiência do sistema. Além disso, deve-se considerar a possibilidade da redução considerável no volume do biorreator quando temperaturas otimizadas são empregadas. Segundo Healey (1982) a temperatura tem um efeito determinante na assimilação de fosfato por microalgas, com valores ótimos na faixa de 20 a 30°C. A remoção dependente da temperatura e independente da concentração de fosfato indica que processos ativos e passivos estão envolvidos na remoção de fosfato por *A. microscopica* Nägeli em biorreatores heterotróficos. Segundo Lei et al. (2007) os processos passivos determinam atividades fisiológicas destes micro-organismos, como consumo de nutrientes e metabolismo respiratório, como resultado da dependência do tamanho e morfologia das células.

Tabela 3. Coeficientes de temperatura e energia de ativação para o biorreator heterotrófico.

Faixa de Temperatura (°C)	θ	Ea (kJ/mol)
10 a 20	1,08 ^a ±0,03	-
20 a 30	1,04 ^a ±0,02	-
10 a 30	-	8,86±0,44

Nota: letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

4. CONCLUSÃO

Biorreatores heterotróficos com *A. microscopica Nægeli* foram efetivos na remoção de fosfato total dissolvido do efluente do processamento de laticínios, verificando-se taxas de remoção de 3,77 mg/L.h, que refletiram em conversões de 98,4% em tempos de detenção hidráulica de 24 h. Deve-se considerar, entretanto, que a remoção de fosfato é altamente sensível a temperatura, principalmente na faixa entre 10 a 20°C ($\theta=1,08$), e nestas condições, a operacionalidade do biorreator deverá ser ajustada para a manutenção da eficiência do sistema.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), projeto CNPq: 564588 2008-3.

6. REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, 2005.
- CEMBELLA, A. D.; ANTIA, N. J.; HARRISON, P. J. The utilization of inorganic and organic phosphorous compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: a multidisciplinary perspective. **CRC Critical Reviews in Microbiology**, v.10, n. 4, p. 317–391, 1983. <http://dx.doi.org/10.3109/10408418209113567>
- DEVI, M. P.; SUBHASH, G. V.; MOHAN, S. V. Heterotrophic cultivation of mixed microalgae for lipid accumulation and wastewater treatment during sequential growth and starvation phases: effect of nutrient supplementation. **Renewable Energy**, v. 43, p. 276-283, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2011.11.021>
- GEIDER, R. J.; OSBORNE, B. A. Respiration and microalgal growth: a review of the quantitative relationship between dark respiration and growth. **New Phytologist Trust**, v. 112, p. 327-341, 1989. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1989.tb00321.x>
- GONZALEZ, L. E.; CAÑIZARES, R. O.; BAENA, S. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. **Bioresource Technology**, v. 60, p. 259–262, 1997. [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)00029-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00029-1)

VIEIRA, J. G.; JACOB-LOPES, E.; MANETTI, A. G. S.; QUEIROZ, M. I. Influência da temperatura na remoção de fosfato por microalgas em biorreatores heterotróficos. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 7, n. 2, p. 101-109, 2012. (<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.856>)

HEALEY, F. P. Phosphate. In: CARR, N. G.; WHITTON, B. A. (Eds.). **The biology of cyanobacteria**. Berkeley: University of California Press, 1982.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – INMET (Brasil). Brasília, 2011. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em: 8 jun. 2011.

JACOB-LOPES, E.; SCOPARO, C.H.G.; QUEIROZ, M. I.; FRANCO, T. T. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 5, p. 894-900, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2009.11.027>

LEI, A. P.; HU, Z. L.; WONG, Y. S.; TAM, N. F. Y. Removal of fluoranthene and pyrene by different microalgal species. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 2, p. 273-280, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.01.012>.

MIYACHI, S.; KANAI, R.; MIHARA, S.; MIYACHI, S.; AOKI, S. Metabolic roles of inorganic polyphosphates in *Chlorella* cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 93, n. 3, p. 625–634, 1964. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-4165\(64\)90345-9](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4165(64)90345-9)

PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M. E.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **Water Research**, v. 45, n. 1, p.11-36, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.037>

PHANG, S. M.; MIAH, M. S.; YEOH, B. G.; HASHIM, M. A. *Spirulina* cultivation in digested sago starch factory wastewater. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 3/5, p. 395–400, 2000. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1008157731731>

POWELL, N.; SHILTON A.; CHISTI Y.; PRATT, S. Towards a luxury uptake process via microalgae – Defining the polyphosphate dynamics. **Water Research**, v. 43, n. 17, p. 4207 – 4213, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.06.011>

POWELL, N.; SHILTON, A. N.; PRATT, S.; CHISTI Y. Factors influencing luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 16, p. 5958–5962, 2008. <http://dx.doi.org/10.1021/es703118s>

POWELL, N.; SHILTON, A.; PRATT, S.; CHISTI, Y. Luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds. In: Stuetz, R., Teik-Thye, L. (Eds.). **Young researchers 2006**. London: IWA Publishing, 2006. p. 249–256. (Water and Environment Management, n. 12).

QUEIROZ, M. I.; HORNES M. O.; SILVA-MANETTI, A. G.; JACOB-LOPES, E. Single-cell oil production by cyanobacterium *Aphanothece microscopica Nægeli* cultivated heterotrophically in fish processing wastewater. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3438-3443, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.047>

QUEIROZ, M. I.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q.; BASTOS, R. G.; GOLDBECK, R. The kinetics of the removal of nitrogen and organic matter from parboiled rice effluent by cyanobacteria in a stirred batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 11, p. 2163-2169, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.034>

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. B.; HERDMAN, M.; STANIER, R. Y. Generic assignments strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 01-61, 1979. <http://dx.doi.org/10.1099/00221287-111-1-1>

VIEIRA, J. G.; JACOB-LOPES, E.; MANETTI, A. G. S.; QUEIROZ, M. I. Influência da temperatura na remoção de fosfato por microalgas em biorreatores heterotróficos. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 7, n. 2, p. 101-109, 2012. (<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.856>)

SAKAMOTO, T.; SHEN, G.; HIGASHI, S.; MURATA, N.; BRYANT, D. A. Alteration of low-temperature susceptibility of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002 by genetic manipulation of membrane lipid unsaturation. **Archives of Microbiology**, v.169, n. 1, p. 20-28, 1997. <http://dx.doi.org/10.1007/s002030050536>

SAWYER, C. N.; MCCARTY, P. L. **Chemistry for environmental engineering**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1978.

SINGH, G.; THOMAS, P. B. Nutrient removal from membrane bioreactor permeate using microalgae and in a microalgae membrane photoreactor. **Bioresource Technology**, v. 117, p. 80–85, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.125>

SMITH, A. J. Modes of cyanobacterial carbon metabolism. In: Carr, N. G.; Whitton, B. A. (Eds.). **The biology of cyanobacteria**. Berkeley: **University of California Press**, 1982.

SÖZEN, S.; ORHON, D.; SAN, H. A. A new approach for the evaluation of the maximum specific growth rate in nitrification. **Water Research**, v. 30, n. 7, p. 1661-1669, 1996. [http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354\(96\)00031-0](http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354(96)00031-0)

STATSOFT INC. **STATISTICA - data analysis software system**. Version 7.0. 2004. Disponível em: <<http://www.statsoft.com>>. Acesso em 17 ago. 2012.

SPIVAKOV, B. Y.; MARYUTINA, T. A.; MUNTAU, D. H. Phosphorus speciation in water and sediments. **Pure Applied Chemistry**, v. 71, n. 11, p. 2161-2176, 1999.

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, D. **Wastewater engineering, treatment and reuse**. 4th edition. New York: McGraw-Hill, 2003.

TOMASELLI, L.; GIOVANNETTI, L.; SACCHI, A.; BOCHI, F. Effects of temperature on growth and biochemical composition in *Spirulina platensis* strain M2. In: Stadler, T.; Mellion, J.; Verdus, M. C.; Karamanos, Y.; Morvan, H.; Christiaen, D. (Eds.). **Algal biotechnology**. London: Elsevier Applied Science, 1988. p. 303-314.