

Eixo Temático ET-02-011 - Saneamento Ambiental

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA MICROALGA *Chlorella* sp. EM LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO EM SISTEMAS ALIMENTADOS EM BATELADA

Maria Célia Cavalcante de Paula e Silva¹, Maria Virgínia da Conceição Albuquerque¹,
Amanda da Silva Barbosa Cartaxo¹, Gabriely Dias Dantas², Howard William Pearson³,
Wilton Silva Lopes⁴, Valderi Duarte Leite⁴

¹Bióloga, Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental - UEPB.

²Mestranda do PPGCTA - UEPB.

³Prof. Dr. do PPGEQ - UFCG.

⁴Prof. Dr. do Departamento de Engenharia Sanitária Ambiental - UEPB.

RESUMO

Neste trabalho foi estudado o crescimento da *Chlorella* sp. em lixiviado de aterro sanitário. O Lixiviado é uma água residuária resultante da degradação dos resíduos e da água que percola na camada de cobertura e interior das células de aterramento. Apresenta elevada carga de poluentes recalcitrantes, altos níveis de nitrogênio amoniacal, metais pesados, matéria orgânica e fósforo, podendo ser aplicado na produção de biomassa algal. O sistema constituiu-se de 7 biorreatores, alimentados em batelada, em fotoperíodo de 24 horas, temperatura de 27 °C, TDH de 336 horas e volume útil de 510 mL (500 de substrato+10 mL meio de cultivo de *Chlorella* sp. em fase estacionária). O lixiviado in natura foi diluído em água destilada em diferentes percentuais (50, 40, 30, 20 e 10%). A cada 48h foi coletada uma alíquota de 50 mL para avaliação do pH, oxigênio dissolvido, turbidez, nitrogênio amoniacal e contagem de células. Cada sistema foi inoculado com $5,4687 \times 10^4$ células. mL⁻¹. As maiores densidades celulares (DC) registradas em 96h foram nas diluições de 10 e 40%, atingindo valores respectivos de $1,26250 \times 10^5$ e $1,52187 \times 10^5$ células. mL⁻¹, representando incrementos 230 e 278%. O menor crescimento foi obtido nas diluições de 20 e 30%, com densidades finais representando 8 e 7% da densidade celular inicial (DCI). O pH foi crescente apenas no controle, atingindo incrementos de 1,2 unidades. Os resultados são indicativos de que a *Chlorella* sp. consegue adaptar-se e crescer em diferentes diluições de lixiviado, podendo ser aplicada eficientemente no tratamento terciário do lixiviado de aterro sanitário.

Palavras-chave: Biomassa algal; Chorume; Fitorremediação; Remoção de nitrogênio amoniacal.

INTRODUÇÃO

A industrialização e o processo de urbanização da sociedade levaram a um aumento na geração de resíduos sólidos urbanos (LI et al., 2018). O aterro sanitário é a tecnologia adotada para o tratamento de resíduos sólidos, contudo, gera elevada quantidade de lixiviado que é uma água residuária de alta toxicidade, com elevada concentração de fosfatos e nitrogênio amoniacal, podendo contribuir para o processo de eutrofização dos ecossistemas aquáticos (SILVA et al., 2019)

Interesse no crescimento de algas em larga escala para a produção de produtos de valor acrescentado, como biocombustíveis, farmacêuticos, cosméticos e suplementos dietéticos resultou na avaliação desta tecnologia em larga escala através de análises preditivas como análises tecno-econômicas e avaliações do ciclo de vida) (NAGARAJAN et al., 2013; QUINN; DAVIS, 2015).

Microalgas são microrganismos fotossintetizantes, portanto dotados de Clorofila *a*, presentes em sistemas aquáticos ou zonas úmidas, praticamente em todas as longitudes,

latitudes e altitudes do globo (BICUDO, 2005; LARKUM et al., 2012). As atenções científicas somente se voltaram para o potencial da *Chlorella* sp. no final de 1940, quando foram cultivadas em meio mineral definido, especificando-se as necessidades ambientais e nutricionais de cada espécie (HSIUAN et al., 2000).

O uso potencial de algas para tratar o lixiviado também foi avaliado (Edmundson e Wilkie, 2013), mas em menor grau comparado ao número de estudos que avaliaram o tratamento de águas residuárias domésticas. O maior teor de nutrientes e maior custo de tratamento do lixiviado, em comparação com as águas residuárias domésticas, significa que este potencial de poupança ainda maior.

Assimilação de nutrientes por algas, especificamente nitrogênio fósforo, seria altamente benéfico, já que a remoção de nutrientes das águas residuais é processo caro em instalações de tratamento de água, custando aproximadamente US\$ 4,4/kg-nitrogênio e 3\$ 3,05/kg-fósforo para remoção (RAWAT et al., 2013).

O desafio de pesquisas no tratamento de lixiviados com algas é o alto teor de nitrogênio amoniacal do lixiviado. A amônia é a fonte preferida de nitrogênio para muitos tipos de algas, mas altas concentrações podem ter efeitos tóxicos nas algas. O lixiviado deverá ser diluído com água ou águas residuárias, a fim de reduzir o teor de amônia para uma concentração não-inibitória (MUNOZ; GUIEYSSE, 2006; PAVASANT et al., 2006).

Neste contexto, a fitorremediação de águas residuárias, principalmente do lixiviado de aterro sanitário, apresenta-se como uma tecnologia com amplo campo de investigação, sendo viável economicamente e promovendo saúde pública e evitando a eutrofização dos mananciais.

OBJETIVO

Diante do exposto este estudo pretendeu avaliar o crescimento de microalgas verdes em lixiviado de aterro sanitário in natura e em diferentes diluições em biorreatores alimentados em regime de batelada.

METODOLOGIA

Considerações gerais

Este trabalho foi realizado nas dependências físicas da Estação Experimental de Tratamentos Biológicos de Esgotos Sanitários (EXTRABES), pertencente à Universidade Estadual da Paraíba, situada no bairro do Tambor, na cidade de Campina Grande – PB, Região Nordeste do Brasil (7°13'11''Sul, 35°52'31'' Oeste). O LAS (lixiviado de aterro sanitário) estudado, foi coletado na entrada da lagoa de decantação do sistema de lagoas de tratamento de lixiviado do (ASMJP), Aterro Sanitário Metropolitano de João Pessoa – PB, transportado em reservatórios de polietileno de 50L até as dependências da EXTRABES, e para subsequente caracterização físico-química.

Etapas do trabalho

Identificação. Foram inoculados, 5 mL de lixiviado em frascos erlenmeyers de 250 mL, contendo cada um, 100 mL de meio ASM-1 estéril, (GORHAM et al. 1964; e ZAGATTO; ARAGÃO, 1992). As amostras foram colocadas em mesa rotatória com 80 rpm, temperatura de 27 °C e fotoperíodo de 24 horas. Transcorrido o período de 7 dias, procedeu-se identificação, utilizando microscópio binocular Olympus CBA, em até 400 vezes de aumento.

Isolamento. O isolamento da *Chlorella* sp. foi realizado pelo método de ágar em placa preconizado por Guerrero III e Villegas (1982). As cepas de *Chlorella* sp. foram inoculadas em placas de Petri, pré-esterilizadas contendo Meio Basal Bold's-MBB (BISCHOFF e BOLD, 1963; BOROWITZKA, 1988) com 1,5% de ágar. As amostras foram mantidas em câmara de cultivo com temperatura de 27^o C em fotoperíodo de 24 horas, sob iluminação de 4 lâmpadas fluorescentes, intensidade de fótons de 85 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2}$.

Passados 21 dias, foi realizado o isolamento usando pipeta de Pasteur. A observação do gênero algal foi procedida em microscópio invertido da marca Oleman em objetiva de 400x, sendo essa amostra unialgal inoculada em frascos erlenmeyers contendo 50 mL de MBB. Aos 21 dias, as microalgas foram inoculadas em 100 mL de MBB e colocadas na mesa rotatória com 80 rev. Min⁻¹ em frascos erlenmeyer de 250 mL. Passados 7 dias, 32 mL de meio de cultivo foram ressuspensos em frascos erlenmeyer de 2L contendo 1600mL MBB.

Monitoração dos biorreatores. Foram montados 7 biorreatores, alimentados em regime de batelada. Destes, 1 foi o controle positivo, tendo MBB como substrato e 5,1 mg. L⁻¹ de nitrogênio amoniacal, e 6, receberam LAS in natura em diferentes percentuais de lixiviado com concentrações afluentes de N-amoniacal (C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ e C₆) sendo respectivamente 2175, 1142, 970, 798, 511 e 339 mg. L⁻¹. Cada biorreator foi alimentado com 500 mL de substrato e 10 mL de meio de cultivo com *Chlorella* sp. em fase estacionária com densidade celular de 5,47x10⁴ cel. mL⁻¹. Os biorreatores foram mantidos em ambiente com fotoperíodo de 24 horas, temperatura controlada a 27 °C, TDH de 336 horas. Foi coletada uma alíquota de 50mL a 48 horas, para determinação do pH, nitrogênio amoniacal, Oxigênio Dissolvido e Turbidez. Para contagem de células em câmara de Neubauer, foi coletada uma alíquota de 5 mL, fixada com 10 gotas de lugol em concentração final de 4%.

Os parâmetros de caracterização do lixiviado e seus respectivos métodos analíticos seguiram o que está preconizado em APHA (2012) e cromatógrafo iônico Dionex ICS-1100 da marca Thermo Scientific. Para se determinar a concentração celular foram contadas todas as células dos blocos individuais maiores da câmara de Neubauer aplicados na Equação 1, segundo Tavares e Rocha (2003).

Equação 1

$$C \text{ (células/ mL)} = \text{contagem total} \times 10^4 / n^0 \text{ de blocos contados}$$

Na Figura 1 está apresentada uma imagem do controle e dos biorreatores com diferentes concentrações diluições de LAS.



Figura 1. Biorreatores com LAS a 100, 50, 40, 30, 20, 10% e controle positivo com 144 h de TDH.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analizando os dados obtidos na caracterização físico-química do lixiviado usado no estudo, registra-se que os sólidos totais, com valor médio de 16003 mg/L, sendo, 10573 para sólidos totais fixos e 5430 mg/L para sólidos totais voláteis, este último representando cerca de

34% dos sólidos totais, indica uma quantidade relativamente pequena de matéria orgânica presente na massa de resíduo, pois, segundo JORDÃO e PESSOA (1995), valores típicos, entre os sólidos totais voláteis e os sólidos totais (STV/ST), para lodo gerado em estações de tratamento de esgotos domésticos estão na faixa de 75% a 85%. Os sólidos também podem aumentar a turbidez, dificultando a passagem da luz e comprometendo a fotossíntese.

A ampla disponibilidade de macronutrientes a exemplo do fósforo e do nitrogênio no lixiviado pode favorecer o crescimento da biomassa, contudo, para a magnitude do nitrogênio amoniacal, é recomendável fazer a diluição do resíduo antes do tratamento. Na Tabela 1 está apresentada a caracterização do LAS aplicado na pesquisa.

Tabela 1. Caracterização do lixiviado do ASMJP.

Parâmetro	Magnitude
DQO total (mg L ⁻¹)	3648
DQO filtrada (mg L ⁻¹)	2271
DBO (mg O ₂ L ⁻¹)	1163
Nitrogênio amoniacal (mg L ⁻¹)	2514
NTK (mg L ⁻¹)	2710
ST (mg.L ⁻¹)	16003
STV (mg. L ⁻¹)	5430
STF (mg. L ⁻¹)	10573
SST (mg. L ⁻¹)	210
SSV (mg. L ⁻¹)	193
SSF (mg. L ⁻¹)	17
Fósforo Total (mg .L ⁻¹)	18
Ortofosfato (mg .P-PO ₄ ³⁻ L ⁻¹)	14
Cl ⁻ (mg .L ⁻¹)	3620
Na ⁺ (mg. L ⁻¹)	2310
Mg ²⁺ (mg. L ⁻¹)	275
K ⁺ (mg .L ⁻¹)	2000
Ca ²⁺ (mg .L ⁻¹)	626
pH	8,0

Fonte: dados da pesquisa

Crescimento da *Chlorella* sp.

No biorreator controle, a *Chlorella* sp. apresentou um incremento de 357% em 96h de monitoração, iniciando com $5,4687 \times 10^4$, atingindo $1,95312 \times 10^5$ células. mL⁻¹. A partir de 144 horas, a cultura entrou em fase de declínio progressivo até a densidade de $1,9375 \times 10^4$ ao final

do experimento. O pH foi elevado de 6,7 a 7,9, sugerindo atividade fotossintética pelas microalgas. Todo o nitrogênio amoniacal presente na amostra foi removido em 48 horas de monitoração. Na Figura 2 está apresentada a curva de crescimento da *Chlorella* sp. no biorreator controle.

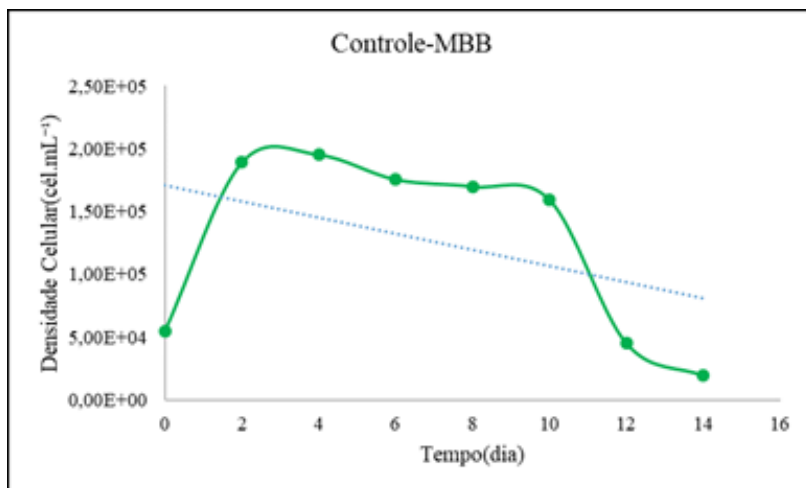


Figura 2. Crescimento da *Chlorella* sp. em biorreator controle.

pH e Turbidez

Não foi registrado incremento significativo no pH em nenhum dos tratamentos contendo lixiviado. Os valores que já deram partida em torno 8,6 aumentou apenas até 8,9. Durante o processo da fotossíntese, as microalgas fotoautotróficas, assimilam CO₂ do meio, elevando o pH do meio.

Nos sistemas com lixiviado diluído a 50, 40 e 30 e 20%, houveram incrementos respectivos de 16, 26, 27 e 11%, atingindo os valores 70, 82, 50 e 47 NTU em 336 h. Este aumento na turbidez provavelmente está relacionado com o aumento da densidade celular nas amostras. O tratamento no qual a turbidez mais próxima com o controle, foi na diluição a 10%, com 339 mg N-NH₄⁺.L⁻¹. Os valores observados foram de 64 e 57% de incremento para os biorreatores com lixiviado a 10% e o controle positivo.

Oxigênio dissolvido

A concentração de oxigênio dissolvido sofreu uma redução progressiva nos sistemas com lixiviado in natura (100%), e diluído (50,40,30 e 20%), com recuperação paulatina a partir de 240 horas de monitoração, sem, contudo, atingir a concentração de entrada até o término do ensaio. O sistema com lixiviado em diluição de 10% a concentração inicial de oxigênio dissolvido foi 5,7 mg. L⁻¹, atingindo 10,6 mg.L⁻¹ em 144h de monitoração, sofrendo decréscimo progressivo até as 336 h, atingindo ao final com 6 mg.O₂.L⁻¹.

Este acréscimo de oxigênio no sistema pode ser explicado pois, durante a fotossíntese, as algas, na presença de luz, assimilam CO₂ e H₂O, e sintetizam CH₂O e O₂. Este comportamento temporal do oxigênio presente no sistema pode também ser relacionado com o incremento de turbidez registrado no biorreator com lixiviado a 10%.

Crescimento celular

Os maiores crescimentos registrados até 96h de monitoração foram em diluição a 10 e 40%, com valores iniciais de 5,4687x10⁴ atingindo respectivamente 1,26250x10⁵ e 1,52187x10⁵ células. mL⁻¹, com incrementos percentuais respectivos de 230 e 278 %. Na Figura 3 estão apresentadas as curvas de crescimento da *Chlorella* sp. nos diferentes tratamentos.

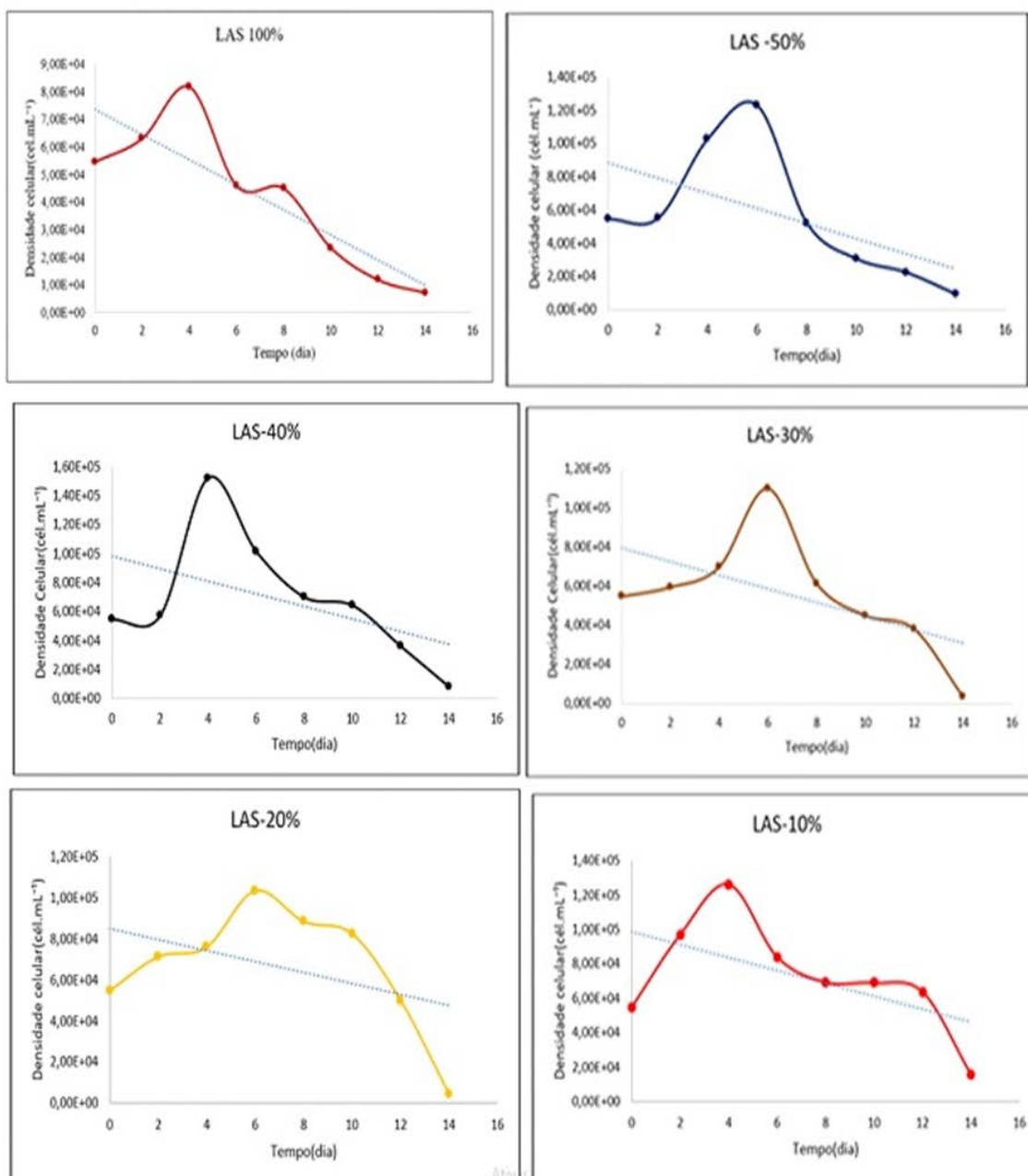


Figura 3. Curvas de crescimento da *Chlorella* sp. em diferentes diluições de lixiviado.

Os menores resultados de crescimento foram identificados em diluições de 30%, com concentrações de N-amoniaco afluentes de 798 mg. L⁻¹. A *Chlorella* sp. entrou em fase de declínio a partir de 192h apresentando densidade celular de 6,1250x10⁴, atingindo 3,75x10³ ao final da monitoração.

Este resultado pode estar relacionado com a toxicidade do nitrogênio amoniacal quando este se encontra em elevadas concentrações. Em estudo de Franco Martinez et al. (2017) a *Chlorella vulgaris* não apresentou inibição em concentrações de amônio menores que 110 mg. L⁻¹. O comportamento das culturas foi semelhante ao obtido por González et al. (1997), que utilizaram *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus dimorphus* para a remoção do amônio de águas residuárias.

Sforza et al. (2015) cultivaram microalgas em lixiviado de aterro sanitário obtendo crescimento substancial em diluições correspondentes a concentrações de nitrogênio amoniacal afluyente variando entre 100 a 200 mg.L⁻¹.

CONCLUSÃO

A partir da análise dos dados, pode-se concluir que:

- O Lixiviado de aterro sanitário é uma água residuária de matriz complexa, contudo, pode ser usada na produção de biomassa de microalgas;
- A *Chlorella* sp. apresentou-se como uma cepa resistente a elevadas concentrações de nitrogênio amoniacal, apresentando crescimento exponencial por até 144h de monitoração;
- A fitorremediação de águas residuárias se apresenta como uma biotecnologia viável e eficiente na recuperação de recursos.

REFERÊNCIAS

APHA, A. W. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22. ed. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 2012.

BICUDO, C.E.M.; MENEZES, M. **Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil**: Chave para identificação e descrições. São Carlos: Rima, 2006.

BISCHOFF, H. W.; BOLD, H. C. **Physiologic studies**. IV. Some algae from Enchanted Rock and related algae species. University of Texas Publications, v. 6318. p.1- 5.1963.

BOROWITZKA, M. A. **Micro-algal Biotechnology Cambridge**. Cambridge: University Press, 1988.

EDMUNDSON, S.J.; WILKIE, A.C. Landfill leachate: A water and nutrient resource for algae-based biofuels. **Environmental Technology**, v. 34, n. 13/14, p. 1849-1857, 2013.

FRANCO MARTINEZ, M.L., RODRIGUES ROSALES, M.D.F., MORENO MEDINA, C.U., MARTINEZ ROLDAN, A.J. Tolerance and nutrients consumption of *Chlorella vulgaris* growing in mineral medium and real wastewater under laboratory conditions. **Open Agriculture**, v. 2, 2017.

GONZALEZ, L. E., CAIZARES, R. O., AND 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.

GORHAM, P.R.; MCLACHLAN, J.; HAMMER, U.T.; KIM, W.K. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena floaquae* (lyng) de Breb. **Verh. Int. Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie**, v. 15, p. 796-804, 1964.

GUERRERO III, R. D.; VILLEGAS, C. T. **Report of the training course on growing food organism for fish hatcheries**. South China Sea Fisheries Development/Coordinating Programam- Philippines, 1982.

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

JORDÃO, E. P. e PESSÔA, C. A. Tratamento de esgotos domésticos. 3. ed. Rio de Janeiro: ABES, 1995.

LARKUM, A. W.; ROSS, I. L.; KRUSE, O.; HANKAMER, B. Selection, breeding and engineering of microalgae for bioenergy and biofuel production. **Trends Biotechnology**, v. 30, n. 4, p. 198-205, 2012.

LI, L., TANG, D., SONG, Y., JIANG, B. Dual-film optofluidic microreactor with enhanced light-harvesting for photocatalytic applications. **Journal of Chemistry and Engineering**, v. 339. 2018.

MUNOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. **Water Res**, v. 40, n. 15, p. 2799-2815, 2006.

NAGARAJAN, S.; CHOU, S. K.; CAO, S., WU, C.; ZHOU, Z. An updated comprehensive techno-economic analysis of algae biodiesel. **Bioresource technology**, v. 145, p. 150-156, 2013.

PAVASANT, P.; APIRATIKUL, R.; SUNGKHUM, V.; SUTHIPARINYANONT, P.; WATTANACHIRA, S.; MARHABA, T. F. Biosorption of Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , and Zn^{2+} using dried marine green macroalga *Caulerpa lentillifera*. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 18, p. 2321-2329, 2006.

QUINN, J. C.; DAVIS, R.. The potentials and challenges of algae based biofuels: A review of the techno-economic, life cycle, and resource assessment modeling. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 444-452. 2015.

RAWAT, I.; RANJITH KUMAR, R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. **Applied Energy**, v. 103, p. 444-467, 2013.

SFORZA, E.; KHAIRALLAH-EMARA, M. H.; SHARIF, A.; BERTUCCO, A. Exploitation of urban landfill leachate as nutrient source for microalgal biomass production. **Chem. Eng. Trans.**, v. 43, p. 373-377, 2015.

SILVA, M. C. C. P.; CARTAXO, A. S. B.; SILVA DO Ó, K. D; PEARSON, H. W; LEITE, V. D. Crescimento da *Chlorella* sp. em diferentes diluições de lixiviado de aterro sanitário. CONAPESC. Campina Grande. 2019.

TAVARES, L. H. S.; ROCHA, O. **Produção de Plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para Alimentação de Organismos Aquáticos**. São Carlos: Rima, 2003.

ZAGATTO, P. A.; ARAGÃO, M. A. **Implantação de métodos para avaliação de algas tóxicas**. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), 1992. (Relatório técnico).