

Eixo Temático ET-02-012 - Saneamento Ambiental

REMOÇÃO DE NITROGÊNIO AMONIACAL DE ESGOTO DOMÉSTICO E LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO USANDO MICROALGAS IMOBILIZADAS

Maria Célia Cavalcante de Paula e Silva¹, Maria Virgínia da Conceição Albuquerque¹,
Amanda da Silva Barbosa Cartaxo¹, Catarina Simone Andrade do Canto²,
Howard William Pearson³, Wilton Silva Lopes⁴, Valderi Duarte Leite⁴

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

²Pós Doutoranda do PPGCTA - UEPB.

³Prof. Dr. do PPGEQ - UFCG.

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

RESUMO

O lixiviado de aterro sanitário é um resíduo líquido proveniente da degradação da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos e da água de chuva que percola a célula de aterramento. Apresenta elevada magnitude de matéria carbonácea, nitrogenada e componentes químicos recalcitrantes. Neste sentido, o lixiviado é considerado uma água residuária de difícil tratamento. A investigação da capacidade fitorremediativa de algumas microalgas tem despertado a atenção da comunidade científica em geral. O trabalho foi desenvolvido na EXTRABES, Campina Grande- PB, e o lixiviado foi coletado no aterro sanitário de João Pessoa- PB. A cepa da *Chlorella* sp. aplicada na pesquisa foi isolada de uma amostra de lixiviado. Os parâmetros avaliados foram pH e nitrogênio amoniacal. O substrato de alimentação foi o lixiviado de aterro sanitário, diluído em esgoto doméstico. O sistema de alimentação foi em regime de batelada, temperatura controlada de 29 °C, luminosidade de 85 $\mu\text{E} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ e TDH de 3h. Os biorreatores foram recheados com 60 mL de esferas com *Chlorella* sp. imobilizada em uma blenda polimérica de alginato e quitosana com diâmetro médio de 4 mm. Os ensaios foram conduzidos em duplicata. Os valores de remoção de N-amoniacal foram de aproximadamente entre 19 e 40% para concentração média afluyente de 250 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ a 285 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Foram registrados decaimento de pH entre 0,2 e 0,8 unidades em todos os ensaios. Os resultados obtidos são indicativos de que o sistema de algas imobilizadas é eficiente na remoção de nitrogênio amoniacal, possibilitando o pós-tratamento biológico do lixiviado.

Palavras-chave: Alginato; Quitosana; *Chlorella* sp.; Chorume; remoção de nutrientes.

INTRODUÇÃO

A utilização das microalgas fotoautotróficas na biorremediação de águas residuárias tem sido investigada nos últimos anos, contudo, o tamanho pequeno de células isoladas implica um problema na aplicação de processos biotecnológicos para esses organismos. Segundo Kaparapu (2017), para resolver esses problemas, as técnicas de imobilização celular foram ampliadas.

A imobilização consiste na retenção de células ou enzimas em uma estrutura física insolúvel, que as obriga a permanecerem em uma região particular do biorreator. A imobilização de microrganismos na forma de biofilmes, flocos e pellets é um fenômeno comum na natureza (PRADELLA, 2001).

O uso de sistemas de algas imobilizadas tendo em vista a remoção de nutrientes de águas residuárias, é uma tecnologia muito atual e, que não requer grandes áreas e uso de produtos químicos, a exemplo dos sistemas de microalgas suspensas. Está sendo investigada, pois os resultados obtidos com o confinamento desses microrganismos são indicativos de remediação e qualidade sanitária destes recursos hídricos. Elas assimilam o fósforo inorgânico e o íon amônio, para seu metabolismo, e, através da fotossíntese, promovendo condições

ambientais para que se desenvolvam outros mecanismos de remoção química, tais como a sorção e a precipitação do fosfato na matriz;

O lixiviado de aterro é um líquido altamente contaminado que resulta de um grupo de processos que ocorrem dentro de células de aterramento; percolação da água da chuva, acumulação de umidade e degradação bioquímica. Sua composição é bastante variável, apresentando altas concentrações de nitrogênio amoniacal, fósforo total, matéria orgânica dissolvida, compostos recalcitrantes, metais pesados e poluentes tóxicos (PENG, 2013). Este efluente, quando descartado sem tratamento prévio, causa grandes impactos negativos ao ambiente como: a toxicidade para a biocenose em geral, a diminuição do oxigênio dissolvido e consequente eutrofização dos corpos aquáticos.

Nitrogênio é o principal constituinte de proteínas, hormônios, moléculas de transferência de energia, construção de material genético, clorofila e enzimas envolvidas na fotossíntese. É responsável por 1-10% de biomassa seca e sua disponibilidade afeta a fotossíntese de microalgas (JIA e YUAN, 2016).

Algumas microalgas são específicas quanto aos aminoácidos que são capazes de transportar, contudo, as espécies do gênero *Chlorella* são, geralmente mais versáteis quanto às suas capacidades de transporte de aminoácidos (KIRK e KIRK 1978a; SAUER et al. 1983; SAUER 1984).

Em estudo de Filippino et al. (2015) foi demonstrado o desempenho de microalgas imobilizadas para um sistema contínuo de tratamento de PO_4^{3-} com um máximo concentração entre 0,4 e 1,8 mg. L⁻¹, com uma remediação de 60 a 100% em um teste de TRH de 12 horas e 0 a 40% em THS de 6,5 horas sob diferentes condições de iluminação e adição de CO₂.

Valdez et al. (2018) monitoraram biorreatores com capacidade de 500 mL, aplicando *Chlorella* sp. imobilizada em esferas de alginato para processos de biorremediação de cádmio em baixas concentrações. Foram obtidas remoções de 59,67%, em concentração de 20 ppm de Cd com TDH de 80 minutos.

OBJETIVO

O presente trabalho visou a avaliar a remoção de nitrogênio amoniacal por microalgas imobilizadas, de um substrato constituído por lixiviado de aterro sanitário diluído em esgoto doméstico.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários (EXTRABES), situada no Bairro do Tambor, em uma área pertencente a Universidade Estadual da Paraíba, na cidade de Campina Grande – PB, com coordenadas geográficas de 7° 13' 11'' S e 35° 52' 31'' W e altitude média de 550 m.

O lixiviado estudado foi coletado no Aterro Sanitário Metropolitano de João Pessoa – ASMJP, está situado no engenho Mussuré, na fazenda Mumbaba III, zona sul da cidade, saída para Recife, próximo a BR-101 Sul. Faz parte de um consórcio de desenvolvimento intermunicipal das cidades de Bayeux, Cabedelo, Conde, Cruz do Espírito Santo, João Pessoa, Lucena e Santa Rita. Na Figura 1 apresenta-se uma imagem da entrada da lagoa de decantação do aterro sanitário da cidade de João Pessoa-PB.



Figura 1. Ponto de entrada do lixiviado na lagoa de decantação do ASMJP.

O lixiviado de aterro sanitário (LAS) foi coletado antes da entrada do sistema de lagoas de tratamento, acondicionado em galões de polietileno de 50 litros, transportado até as dependências da EXTRABES para posteriormente ser caracterizado física e quimicamente.

Identificação

Para identificação do fitoplâncton, 5 mL de lixiviado (2,5 afluentes e 2,5 efluentes de cada lagoa) foram transportados para cinco frascos erlenmeyers de 250 mL, contendo cada um, 100 mL de meio ASM-1 estéril, (Modificado de Gorham et al. 1964 e Zagatto e Aragão, 1992). O sistema de classificação para classes e gêneros seguiu recomendações de Bicudo e Menezes (2006). A contagem foi realizada pelo método da sedimentação de Utermöhl (1958).

Isolamento da *Chlorella* sp.

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 27⁰ C, fotoperíodo de 24 horas, sob iluminação de lâmpadas fluorescentes, intensidade de fótons de 85 $\mu\text{E} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. A cepa isolada foi ressuspensa em frascos erlenmeyer de 2L contendo 1600mL MBB.

Imobilização da *Chlorella* sp.

A metodologia de produção das esferas com *Chlorella* sp. imobilizada, foi pela técnica de engaiolamento, adaptada de Wang et al. (2005). Para tanto, foram preparadas as seguintes soluções:

Solução de alginato de sódio. Foi preparada com água destilada, uma amostra contendo solução de alginato P.A. da marca Aldrich a 8% (m/v). Esta, foi esterilizada durante 15 minutos a 121 °C em autoclave PRISMATEC. Esta solução foi resfriada até temperatura ambiente.

Solução de cloreto de cálcio. Paralelamente 4,4 g de cloreto de cálcio P.A foram diluídos para 100 mL de água destilada, sendo esta solução (0,3 M) em seguida autoclavada a 121 °C por 15 minutos e, posteriormente, resfriada a temperatura ambiente, conforme especificado anteriormente.

Solução de Quitosana. Para a solubilização da quitosana foi utilizado o ácido acético P.A, diluído a 2% (v/v) em água destilada. Foi preparada uma solução de quitosana da marca POLIMAR a 2% (m/v). Essa solução foi levada para agitador magnético Tecnal-TE-085 por 2h a 60°C, sob agitação de 40 rpm até diluição completa. Após preparada, a solução foi resfriada em temperatura ambiente (25°C). A quitosana solubilizada, foi misturada com a solução de alginato a 2% (m/v) na proporção 1:1. Os polímeros foram misturados manualmente até homogeneização completa, em seguida, colocados em um erlenmeyer de 500 mL, agitados a 200 rpm por 30 minutos em agitador magnético FANEN modelo 257.

Após resfriada, esta solução polimérica foi adicionada uma solução concentrada de algas na proporção 1:1. Para formação das esferas, a solução alga-alginato-quitosana, foi aduzida por bomba peristáltica modelo MILAN com vazão de 15 mL.min⁻¹ através de um tubo de silicone com 100 cm e 4 mm de diâmetro, sendo gotejada na solução receptora de CaCl₂. Após finalização do processo, as esferas foram mantidas na solução por 0,5h para enrijecimento. Na Figura 2 está apresentado o mecanismo de imobilização da *Chlorella* sp. e uma amostra de esferas produzidas.

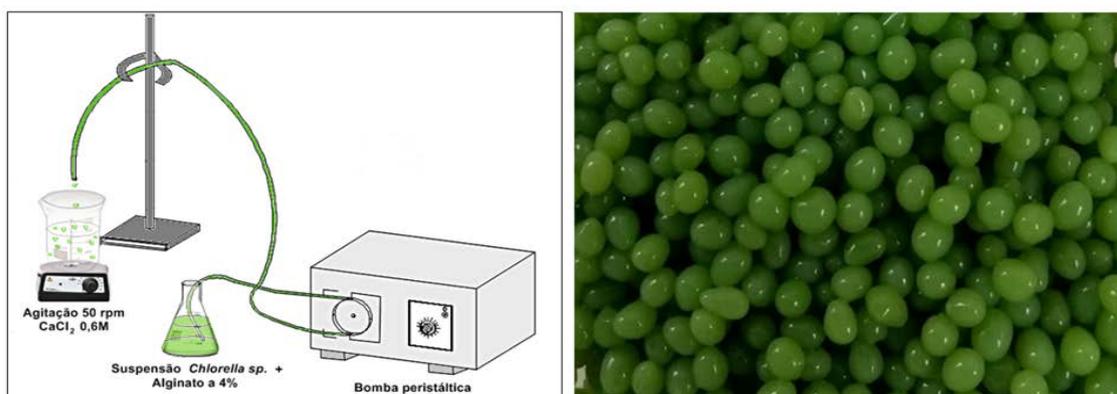


Figura 2. Mecanismo de produção das esferas de alginato com *Chlorella* sp. imobilizada e amostra de esferas.

Monitoração do sistema. Para que o ensaio fosse realizado em duplicata, foram projetados 2 biorreatores tubulares de vidro pyrex transparente, com 0,1L de capacidade, tendo uma torneira na parte inferior, 2 cm de leito fixo de fibra de vidro, estando recheado, por 0,06L de esferas, aproximadamente 816 (10,2 esferas/mL substrato). Estes, foram mantidos em temperatura controlada (27 °C) e luminosidade de 4 lâmpadas fluorescentes, tendo 80 mL como volume de substrato tratado e 42% de espaço vazio. O regime de alimentação foi em batelada com TDH de 3 horas. O substrato foi preparado diluindo lixiviado em esgoto doméstico, visando uma concentração definida de N-NH₄⁺ afluyente. Após a finalização de cada ensaio, os biorreatores foram esvaziados do substrato, envolvidos em lâmina de alumínio para realização do próximo teste com a mesma batelada de esferas.

A análise dos parâmetros foi conduzida em duplicata, conforme metodologia preconizada por Standard Methods (APHA, 2012). As amostras para estudo dos íons receberam tratamento de filtração em membrana de fibra de vidro de 0,45µm e 0,22µm para análise em cromatógrafo iônico Dionex ICS-1100 da Thermo Scientific.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentados os dados de caracterização físico-química do lixiviado estudado.

Tabela 1. Caracterização Físico-química do lixiviado do ASMJP.

PARÂMETRO	Magnitude
Alcalinidade total (CaCO ₃ L ⁻¹)	8620
Ácidos Graxos Voláteis (H _{AC} L ⁻¹)	929
DQO total (mgO ₂ L ⁻¹)	3330,5
DQO filtrada(mgO ₂ L ⁻¹)	2820,5
N-NH ₄ ⁺ (mg- NH ₄ ⁺ L ⁻¹)	2389
N-NO ₃ ⁻ (mgN- NO ₃ ⁻ L ⁻¹)	24,76
NO ₂ ⁻ (mgNO ₂ ⁻ L ⁻¹)	7,0
ST (mg L ⁻¹)	12150
STV (mg L ⁻¹)	3295
STF (mg L ⁻¹)	8855
SST(mg L ⁻¹)	400
SSV(mg L ⁻¹)	120,5
SSF(mg L ⁻¹)	279,5
Fósforo Total(mg.P L ⁻¹)	23,8
Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	2236,6
Na ⁺ (mg L ⁻¹)	1468,3
K ⁺ (mg L ⁻¹)	1429,8
Mg ⁺ (mg L ⁻¹)	152,9
Ca ⁺⁺ (mg L-1)	224,9
pH	8,2

Analisando os dados da Tabela 1, identifica-se ampla concentração de nitrogênio amoniacal, o que justifica a diluição deste resíduo para posterior tratamento. Contudo, em função do pH, 93% do nitrogênio amoniacal, encontra-se na forma ionizada, a qual as algas dão preferência na assimilação por demandar menor soma de energia. Quanto a concentração de fósforo total, aproximadamente 23,8 mg. L⁻¹, pode fornecer um bom aporte nutricional para as microalgas, que o utilizam na síntese de ácidos nucleicos. Na concepção de Miyachi et al. (1964), o crescimento de algas requer fósforo, pois é um elemento essencial necessário para constituintes celulares, como fosfolipídios, nucleotídeos e ácidos nucléicos.

Remoção de N- amoniacal

Os resultados de remoção de nitrogênio amoniacal TDH com concentrações afluentes entre 240 e 285 mg. L⁻¹ foram entre 19 e 40%, contudo, não houve incremento do pH, outrossim, identificou-se uma queda do pH em 6 experimentos realizados. Esse resultado pode ser explicado, pois o ácido acético utilizado na preparação da quitosana, pode ter mantido um pH ácido no interior da esfera, comprometendo o pH do meio. Na Figura 3, estão apresentados os dados de remoção de N- amoniacal.

Outra possível explicação para a queda no pH, principalmente na 1^a hora de contato, pode estar relacionada com a remoção de N-NH₄⁺ por microalgas em elevadas concentrações. O NH₄⁺-N é a forma preferencial de nitrogênio por microalgas, pois, está em seu estado reduzido requerendo menor energia celular para a absorção metabólica.

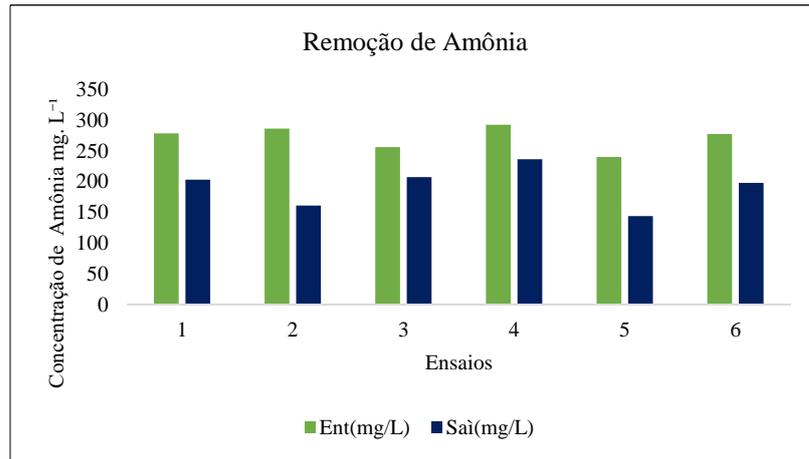


Figura 3. Remoção de N-amoniaco em algas imobilizadas em AG/QT.

Na concepção de JIA e YUAN, (2016), o NH_4^+ quando assimilado diretamente na via do ácido glutâmico (aminoácido), libera íons H^+ , o que pode reduzir o pH do meio. Em estudo desenvolvido por Khanzada et al. (2018) com *Chlorella vulgaris* e *Chlamydomonas reinhardtii* no tratamento de lixiviado, identificou-se que o pH estava constantemente diminuindo, chegando a 5,7, sendo necessária a adição de NaOH 6M antes da coleta de amostras. Liang et al. (2015) observaram uma diminuição no pH de 7 para 3,5 na remoção de NH_4^+ via sistema algas-bactérias. Na Figura 4 apresenta-se o comportamento do pH em biorreatores AG/QT na remoção de N- amoniaco.

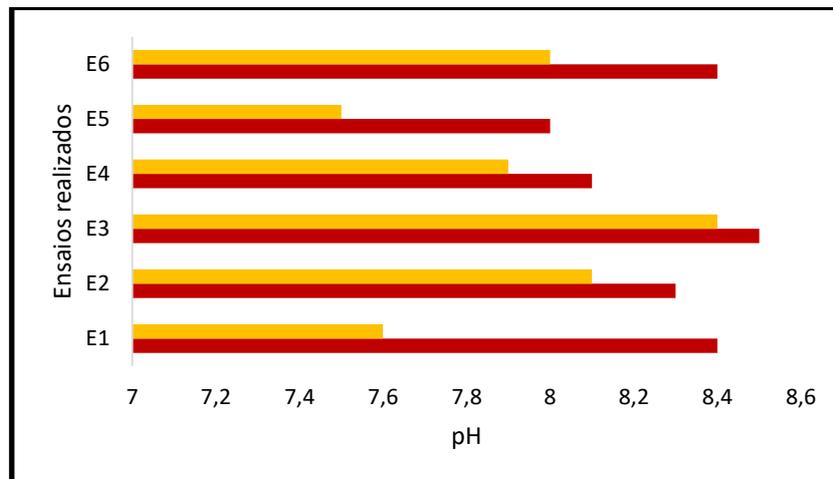


Figura 4- Comportamento do pH durante a monitoração.

A baixa remoção obtida pode estar associada à toxicidade de altas concentrações de amônio para a célula. A toxicidade do NH_4^+ foi demonstrada que ocorre mesmo em meio com pH tamponado, sugerindo que a toxicidade não está relacionada apenas a mudanças no pH externo e perturbação do pH citosólico induzida por amônio (BLIGNY et al., 1997). Trabalhos recentes (Britto e Kronzucker, 2006) indicam que é a natureza intensiva de energia do elevado movimento de NH_4^+ que desencadeia a toxicidade.

CONCLUSÃO

Analisando os resultados obtidos, neste estudo, pode-se inferir que a *Chlorella* sp. imobilizada consegue manter sua fisiologia preservada e, ser eficiente na remoção de N-amoniaco de substrato formado por esgoto doméstico e lixiviado de aterro sanitário, contudo, a

quitosana pode ter interferido no metabolismo fotossintético da microalga, promovendo a redução do pH no interior da esfera. Desta forma, estudos sobre toxicidade, balanço de massa e de otimização das condições operacionais para melhor compreensão dos processos são imprescindíveis.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA, AWWA, WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22. ed. Washington: APHA, 2012.

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

BLIGNY, R.; GOUT, E.; KAISER, W.; HEBER, U.; WALKER, D.; DOUCE, R. pH regulation in acid-stressed leaves of pea plants grown in the presences of nitrate of ammonium salts: Studies involving p-NMR spectroscopy and chlorophyll fluorescence. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1320, p. 145-152, 1997.

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

BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J. Futile cycling at the plasma membrane a hallmark low-affinity nutrient transport. **Trends Plant Sci.**, v. 11, p. 529-534, 2006.

FILIPPINO, K, C.; MULHOLLAND, M, R.; BOTT, C.B. Phycoremediation strategies for rapid tertiary nutrient removal in waste stream. **Algal Research**, v. 11, p. 125-133, 2015.

GORHAM, P.R.; MCLACHLAN, J.; HAMMER, U.T.; KIM, W.K. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (lyng) de Breb. **Verh. Int. Verein. Limnol.**, 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. Philippines, South China Sea Fisheries Development/Coordinating Program- 1982.

JIA, H.; YUAN, Q. Removal of nitrogen from wastewater using microalgae and microalgae-bacteria consortia. **Cogent Environ Sci.**, v. 2, p. 1-15, 2016.

KAPARAPU, J. Micro algal Immobilization Techniques. **Journal of Biomass Utilization**, v. 8, n. 1, p. 64-70, 2017.

KHANZADA, Z.T.; ÖVEZ, S. Growing Fresh Water microalgae in High Ammonium Landfill Leachate. **American Journal of Mechanics and Applications**, p. 50-61, 2018.

KIRK, M.M.; KIRK, K.L. Carrier-mediated uptake of originine and urea by *Volvox carteri* f. *nagariensis*. **Plant Physiol.**, v. 61, p. 451-458, 1978.

MIYACHI, S.; KANAI, R.; MIHARA, S.; AOKI, S. Metabolic roles of inorganic polyphosphates in *Chlorella* cells. **Biochim Biophys Acta**, v. 93, n. 3, p. 625-634, 1964.

PENG, Y. Perspectives on technology for landfill leachate treatment. **Arab. J. Chem.**, 2013.

PRADELLA, J. G. C.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. Reatores com células imobilizadas. In: **Biocologia Industrial**: Engenharia Bioquímica. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 355-372.

SAUER, N. A general amino acid permease is inducible in *Chlorella vulgaris*. **Planta**, v. 161, p. 425-431, 1984.

SAUER, N.; KOMOR, E.; TANNER, W. Regulation and characterization of two inducible amino acid transport systems in *Chlorella vulgaris*. **Planta**, v. 159, p. 404-410, 1983.

UTERMÖHL, H. Zür Vervollkommung der quantitativen phytoplankton methodik. **Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 9, p. 1-38, 1958.

WANG, L.; RIDGWAY, D.; GU, T.; MOO-YOUNG, M. Bioprocessing strategies to improve heterologous protein production in filamentous fungal fermentations. **Biotechnology Advances**, v. 23, n. 2, p. 115-129, 2005.

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).