

## REMOÇÃO DE NUTRIENTES POR *Chlorella* sp. EM DIFERENTES DILUIÇÕES DE LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO

Maria Célia Cavalcante de Paula e Silva<sup>1</sup>  
Maria Virgínia da Conceição Albuquerque<sup>2</sup>  
Wilton Silva Lopes<sup>3</sup>  
Howard William Pearson<sup>4</sup>  
Valderi Duarte Leite<sup>5</sup>

### RESUMO

Lixiviado de aterro sanitário é uma água residuária de matriz complexa de alto poder poluente. Apresenta elevadas concentrações de nitrogênio amoniacal, fósforo, matéria carbonácea e substâncias recalcitrantes. A aplicação de microalgas na remoção de poluentes do lixiviado tem sido investigada. As cepas de *Chlorella* sp. aplicadas neste trabalho, foram isoladas do lixiviado do aterro sanitário de João Pessoa- PB. O sistema experimental constituiu-se por 3 biorreatores com volume útil de 210 mL, sendo, 200 mL de lixiviado diluído em água destilada e 10 mL de meio de cultivo de *Chlorella* sp. em fase estacionária, alimentados em batelada, fotoperíodo de 24 horas, temperatura de 27<sup>o</sup> C, TDH de 240 horas e concentrações afluentes de N-amoniacoal de 46, 192 e 575 mg. L<sup>-1</sup> e um controle positivo. As maiores densidades celulares foram registradas nas concentrações de N-amoniacoal afluentes de 46 e 192 mg. L<sup>-1</sup>, com incrementos superiores a 250% até o 5<sup>o</sup> dia de monitoração. O menor crescimento foi obtido na concentração de nitrogênio amoniacoal de 575 mg. L<sup>-1</sup> com incrementos até o 5<sup>o</sup> dia de 12%. A análise do cálculo da massa de nitrogênio residual no sistema, indicou remoção de massa de 66, 59 e 56% para entradas afluentes de 9,66; 40,32 e 120,75 mg-N para concentrações afluentes de N- amoniacoal respectivas de 46, 192 e 575 mg. L<sup>-1</sup>. Os resultados são indicativos de que a *Chlorella* sp. consegue adaptar-se e crescer em diferentes concentrações de nitrogênio amoniacoal, podendo ser aplicada eficientemente no tratamento terciário do lixiviado de aterro sanitário.

*Palavras Chave:* Nitrogênio amoniacoal; Fitorremediação; Microalgas; Tratamento de chorume.

### INTRODUÇÃO

A geração de resíduos sólidos urbanos pela sociedade representa um desafio que carece da participação de diversos segmentos para a resolução do mesmo. A maior fração destes

<sup>1</sup> Doutoranda do PPGCTA da Universidade Estadual da Paraíba, [celia\\_romulo@hotmail.com](mailto:celia_romulo@hotmail.com) ;

<sup>2</sup> Doutoranda do PPGCTA da Universidade Estadual da Paraíba, [virginia.albuquerque@yahoo.com.br](mailto:virginia.albuquerque@yahoo.com.br);

<sup>3</sup> Doutor do PPGCTA da Universidade Estadual da Paraíba; , [wiltonuepb@gmail.com](mailto:wiltonuepb@gmail.com);

<sup>4</sup> Doutor do PPGEQ da Universidade Federal de Campina Grande, [howard\\_william@uol.com.br](mailto:howard_william@uol.com.br)

<sup>5</sup> Professor Orientador: Doutor em Hidráulica e Saneamento pela EESC - USP, - [mangabeiraleite@gmail.com](mailto:mangabeiraleite@gmail.com)

resíduos, é disposta em aterros controlados e lixões, a qual, durante sua biodegradação, provoca problemas diversos, dentre estes, a geração de lixiviado, resíduo líquido de alto poder contaminante para o ecossistema em geral.

O Lixiviado de aterro sanitário apresenta altos níveis de nitrogênio amoniacal (3000-5000 mg/L-  $N-NH_3$ ), compostos orgânicos tóxicos xenobióticos dissolvidos, baixa razão de demanda química e bioquímica de oxigênio ( $DBO_5$ :  $DQO \rightarrow 0,2$  ou menos) e metais pesados (KHANZADA et al. 2018). O Lixiviado é considerado uma água residuária de alta força iônica devido a nutrientes inorgânicos dissolvidos, o que pode levar à salinidade com aumento dos níveis de íons cloreto ( $\sim 5g Cl^- \cdot L^{-1}$ ), sais totais dissolvidos e condutividade (CHENG et al., 2011; KJELDSEN et al., 2002).

O nitrogênio amoniacal presente no lixiviado pode assumir forma iônica ou livre em solução aquosa, dependendo assim, sua concentração do pH e da temperatura. A concentração de nitrogênio amoniacal aumenta com o tempo e pode se constituir como um dos principais poluentes de longa duração. Uma das principais questões relativas à gestão de aterros fechados é a eliminação de lixiviados que continua a ser produzido (com elevada concentração de  $NH_4^+ -N$ ) durante muito tempo, mesmo após o encerramento de aterros (KJELDSEN et al., 2002).

A biorremediação usando microalgas, mais conhecida como fitorremediação, tem sido uma abordagem ecológica para combater a poluição ambiental, como o tratamento de águas residuárias (MISHRA et al. 2018). As microalgas são importantes no tratamento terciário de efluentes devido à sua capacidade metabólica de remover nutrientes, poluentes e metais pesados (PACHECO et al., 2015). Nitrogênio é o principal constituinte de proteínas, hormônios, moléculas de transferência de energia (ATP), 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).

Silva et al. (2017), monitorando biorreatores tubulares com volume de 0,1L com recheio de *Chlorella* sp. imobilizada em esferas de alginato de cálcio em concentração final de 2, 4 e 6%, com TDH de 5(cinco) horas, alimentados por efluente de filtro de areia, em regime de batelada intermitente, obtiveram remoção de 81% de fósforo total em biorreatores com esferas de alginato em concentração de 2%. Os valores de remoção obtidos para os biorreatores com 4% e 6% de alginato foram significativamente menores.

Em estudo de Silva et al. (2019), monitorando biorreatores recheados com *Chlorella* sp. imobilizada em matriz de alginato de cálcio a 4%, com temperatura e luminosidade controladas,

na remoção de N- amoniacal, alimentados por substrato constituído de esgoto doméstico e lixiviado de aterro sanitário com diferentes concentrações de nitrogênio amoniacal, TDH de 3 horas e regime de alimentação em batelada, foram registradas remoções entre 59 e 81% nas concentrações testadas.

Considerando a complexa matriz química do lixiviado e os múltiplos impactos que este pode causar nos ecossistemas aquáticos, quando lançado sem tratamento, este trabalho, visou o estudo da remoção de nitrogênio amoniacal por *Chlorella* sp. em diferentes diluições de lixiviado de aterro sanitário para a obtenção de um efluente com melhores condições sanitárias.

## **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.

O LAS (lixiviado de aterro sanitário) foi coletado na entrada da lagoa de decantação do sistema de lagoas de tratamento de lixiviado do aterro sanitário da região metropolitana da cidade de João Pessoa – PB, transportado em reservatórios de polietileno de 250L até as dependências da EXTRABES, e caracterizado física e quimicamente. Na Figura 01 apresenta-se uma imagem a vista aérea do aterro sanitário da cidade de João Pessoa.

Figura 01-Vista aérea do aterro sanitário de João Pessoa com destaque para as lagoas de tratamento de lixiviado.



Fonte: Google Earth

## Etapas do Trabalho

### *Identificação do fitoplâncton*

Foram inoculados, 5 mL de lixiviado em 10 frascos erlenmeyers de 250 mL, contendo cada um, 100 mL de meio ASM-1 estéril, (GORHAM et al. 1964 e ZAGATTO e ARAGÃO, 1992). As amostras foram colocadas em mesa rotatória com 80 rpm, temperatura de 30<sup>0</sup> 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 da Chlorella sp.*

Diante do levantamento fitoplânctônico, foi realizado o isolamento da *Chlorella* sp. 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 (MBB) 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<sup>0</sup>C em fotoperíodo de 24 horas, iluminação de 4 lâmpadas fluorescentes, intensidade de fótons de 85  $\mu\text{E}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ .

Passados 21 dias, foi realizado o isolamento usando pipeta de Pasteur. A observação do gênero algal foi procedida em microscópio invertido da marca Olemann em objetiva de 400x, sendo essa amostra unialgal repicada em frascos erlenmeyer 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<sup>-1</sup> 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 3 biorreatores, alimentados em regime de batelada. Estes, receberam lixiviado de aterro sanitário diluído em água destilada em diferentes concentrações afluentes de N-amoniaco (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>) sendo respectivamente 46, 192 e 575 mg.L<sup>-1</sup> e um controle com 200 mL de MBB. Cada biorreator foi alimentado com 200 ml de substrato e 10 mL de inóculo de cultivo com *Chlorella* sp. em fase estacionária com Densidade Celular Inicial (DCI) de 1,78437x10<sup>5</sup> célula.mL<sup>-1</sup>. Os biorreatores foram mantidos em ambiente com fotoperíodo de 24 horas, temperatura controlada a 27<sup>o</sup>C, TDH de 240 horas.

Foram coletadas três alíquotas de 50mL cada, no tempo zero, 120 e 250 horas, para determinação do pH e nitrogênio amoniaco. Para quantificação de células de *Chlorella* sp., foi realizada contagem em câmara de Neubauer e, para determinação da concentração celular foram contadas todas as células dos blocos individuais maiores da câmara de Neubauer aplicados na Equação 1, segundo Tavares e Rocha (2003).

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

Equação 1

Os parâmetros de caracterização do lixiviado e seus respectivos métodos analíticos seguiram o que está preconizado em APHA (2012). Para avaliação dos íons, a mostra foi filtrada em membrana de 0,45 e 0,22 µm para injeção em cromatógrafo iônico Dionex ICS-1100 da marca Thermo Scientific. Na Figura 1 estão apresentados os biorreatores com as concentrações C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>.

Figura 1. Biorreatores com LAS em diferentes concentrações afluente de N- amoniaco com 120 horas de monitoração.



Fonte: dados da pesquisa

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Caracterização do lixiviado*

O lixiviado aplicado na pesquisa foi caracterizado fisicoquimicamente. Na Tabela 1 estão apresentados os dados de caracterização do LAS utilizado no cultivo da *Chlorella* sp.

Tabela 1: parâmetros físicos e químicos do LAS aplicado na pesquisa

PARÂMETRO	Magnitude
DQO total ( mgO <sub>2</sub> /L)	3647,8
DQO filtrada(mgO <sub>2</sub> /L)	2270,6
DBO <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /L)	1163,2
NTK(mgN/L)	2710
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg- NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /L)	2514
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg N- NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L)	7,38
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ( mgNO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /L)	-
ST (mg/L)	16003,3
STV ( mg/L)	5430
STF ( mg/L)	10573,33
SST(mg/L)	210
SSV(mg/L)	193,33
SSF(mg/L)	16,67
Ortofosfato(mg Orto-P/L)	14,184
Fósforo Total(mg/L)	18,03
Cl <sup>-</sup> (mg/L)	3619,8
Na <sup>+</sup> (mg/L)	2301
K <sup>+</sup> (mg/L)	2000
Mg <sup>+</sup> (mg/L)	275,04
Ca <sup>++</sup> (mg/L)	626,46
pH	8,0

Fonte: dados da pesquisa

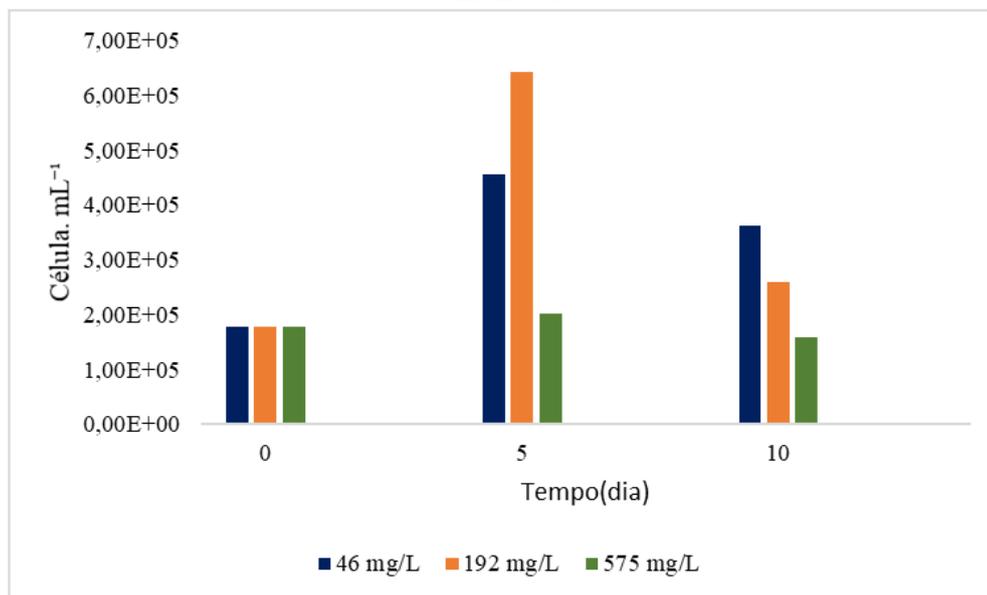
Na análise dos dados da Tabela 1, identifica-se elevada concentração sólidos totais, que pode comprometer a passagem da luz para o processo fotossintético. Quanto ao nitrogênio amoniacal, em sua maior fração na forma de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, aproximadamente 95% como função do pH 8,0, é a forma preferencialmente assimilável pelas microalgas, contudo, sua magnitude sugere que deve ser feita a diluição do lixiviado em água destilada ou esgoto para favorecer a remoção. A concentração de ortofosfato, fração imediatamente assimilável, é significativa, podendo favorecer o crescimento microalgáceo.

### *O crescimento celular*

O incremento celular registrado na concentração de 192 mg. L<sup>-1</sup> de N- amoniacal afluyente foi de 360% até o 5<sup>o</sup> dia de monitoração, partindo da DCI de 1,78437x10<sup>5</sup> cel. mL<sup>-1</sup> atingindo 6,43125 x 10<sup>5</sup> com remoção de 30 mg de nitrogênio amoniacal.

Em todas as concentrações estudadas, verificou-se que as culturas estavam em fase de declínio entre o 5<sup>o</sup> e o 10<sup>o</sup> dia de monitoração, reduções na DC de 21, 60 e 22%, respectivamente para as concentrações de N- amoniacal afluyente de 46, 192 e 575 mg. L<sup>-1</sup>. No controle, foi registrado incremento de 235% até o 10<sup>o</sup> dia, atingindo valores de 5,97x10<sup>5</sup>, remoção completa do nitrogênio amoniacal afluyente (1,4 mg. L<sup>-1</sup>) a partir do 11<sup>o</sup> dia. Na Figura 2 está apresentado o crescimento da *Chlorella* sp. em diferentes concentrações de N- amoniacal no TDH de 10 dias.

Figura 2: Comportamento temporal do crescimento da *Chlorella* sp. em diferentes concentrações de N- amoniacal.



Fonte: dados da pesquisa

## pH

Neste trabalho foram registrados incrementos progressivos no pH nos três tratamentos. Na concentração de 46 mg. L<sup>-1</sup> de N- amoniacal afluyente, o pH inicial foi 7,8 atingindo 9,7 até o 10<sup>o</sup> dia de monitoração. As elevações menos expressivas (0,6 unidade), foram observadas na

(83) 3322.3222

contato@congresso-conimas.com.br

www.congresso-conimas.com.br

concentração afluyente de 575 mg. L<sup>-1</sup>. Este resultado sugere que mesmo partindo de um pH elevado, a *Chlorella* sp., através da fotossíntese, assimilou CO<sub>2</sub> do meio e, os íons bicarbonato presentes se dissociam produzindo CO<sub>2</sub> e OH<sup>-</sup> elevando o pH.

Diversos estudos apontam redução do pH na fitorremediação do LAS. Em trabalho de JIA e YUAN, (2016), o NH<sub>4</sub><sup>+</sup> quando assimilado diretamente na via do ácido glutâmico (aminoácido), libera íons H<sup>+</sup>, o que pode reduzir o pH do meio. 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.

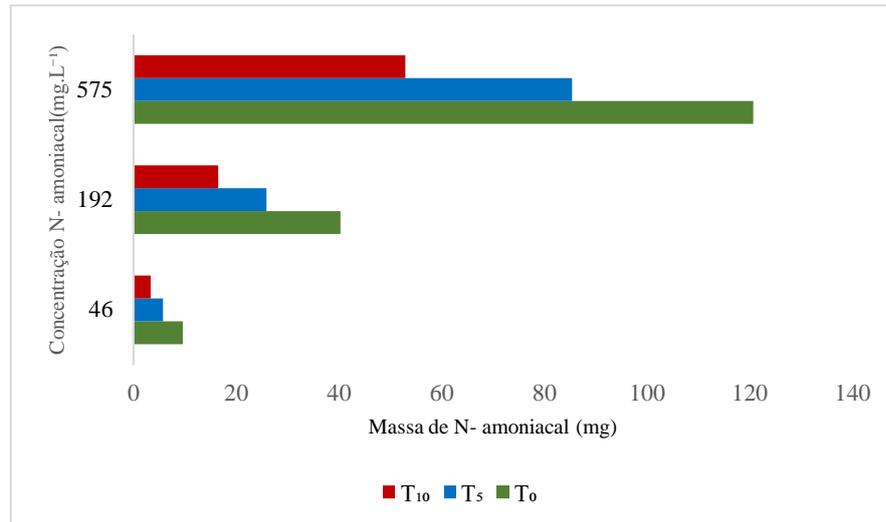
### *Remoção de N- amoniacal*

Calculando a massa de N- amoniacal em cada sistema, foram registrados valores afluentes aproximados de 9,7/40,3 e 121-N com valores respectivos ao término do experimento de 3,3; 16,5 e 52,91 mg-N representando remoções médias de 66, 59 e 56% para as concentrações respectivas de N- amoniacal de 46, 192 e 575 mg. L<sup>-1</sup>. Estes dados são indicativos de que a *Chlorella* sp. é tolerante a elevadas concentrações de N-amoniacal, conseguindo incorporar massa de nitrogênio.

Outro aspecto registrado, foi em relação à dimensão da célula de *Chlorella* sp. . Na concentração afluyente de 46 mg. L<sup>-1</sup>, as células mantiveram seus volumes normais de aproximadamente 10µm. O inverso foi observado na concentração de 575 mg. L<sup>-1</sup>. Este resultado sugere que, elevadas concentrações de nitrogênio amoniacal interferem na densidade e no tamanho da *Chlorella* sp.

Na concepção de Klochenko et al. (2003), a tolerância de algas verdes a altas concentrações amônio é devido elas terem maior atividade do sistema GS/GDH e, portanto, o amônio é convertido rapidamente em aminoácidos, ao invés de ser acumulado na célula. Corroborando com este pensamento, Giordano et al. (2003), afirma que o amônio estimula a produção da PEPCase que leva à rápida incorporação de amônio em compostos orgânicos para evitar toxicidade em algas. Na Figura 3 está apresentado o comportamento temporal da massa de N- amoniacal no sistema ao longo da monitoração.

Figura 3: comportamento temporal da massa de N- amoniacal nos diferentes tratamentos.



Fonte: elaborada pela autora

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da análise destes dados, pode-se inferir que:

- Considerando que o lixiviado de aterro sanitário é um resíduo líquido de matriz complexa, com substâncias recalcitrantes e elevada turbidez, os resultados obtidos são indicativos de que a *Chlorella* sp. é eficiente na remoção de nitrogênio amoniacal em diferentes diluições de lixiviado em sistemas alimentados em batelada;
- As concentrações superiores a 200 mg. L<sup>-1</sup> de nitrogênio amoniacal, podem produzir efeito inibitório na célula, carecendo maiores estudos no tratamento biológico do lixiviado de aterro sanitário;
- Neste aspecto, a fitorremediação pode ser uma alternativa viável na recuperação de recursos presentes nas águas residuárias, mitigando, portanto, quadros de eutrofização dos mananciais.

## REFERÊNCIAS

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

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. **University Press. Cambridge.** 1988.

CHENG H-X, TIAN G-M. Preliminary Evaluation of a Newly Isolated Microalga *Scenedesmus* sp. CHX1 for Treating Landfill Leachate. **Intell Syst Des Eng Appl** .2013.

GIORDANO, M., NORICI, A., FORSSEN, M., ERIKSSON, M., RAVEN, J.A. An anaplerotic role for mitochondrial carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Plant Physiol.** 132, 2126–2134. 2003.

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.**, 15:796-804, 1964.

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

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

KJELDSSEN P, BARLAZ MA, ROOKER AP, BAUN A, LEDIN A, CHRISTENSEN TH. Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review. **Crit Rev Environ Sci Technol** ;32:297–336. 2002.

KLOCHENKO, P.D., GRUBINKO, V.V., GUMENYUK, G.B., ARSAN, O.M. Peculiarities of ammonium nitrogen assimilation in green and blue-green algae. **Hydrobiol. J.** 39, 102–108. 2003.

MISHA, A., MEDHI, K., MAHESHWARI, N., SRIVASTAVA, S., TRAKUR, I, S., Biofuel production and phycoremediation by *Chlorella* sp. ISTLA1 isolated from landfill site. **Bioresource Technology**, 2018.

PACHECO M,M., HOELTZ M, MORAESM,S A, SCHNEIDER RCS. Microalgae: Cultivation techniques and wastewater phycoremediation. **J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng** ;50:585–601. 2015.

SILVA, M.C.C.P; PEARSON, H.W; SILVA DO Ó; K.D; SOUSA, J.T; CANTO, C.S.A; LEITE, V.D. Remoção de nitrogênio amoniacal de lixiviado de aterro sanitário aplicando *Chlorella* sp. Imobilizada em matriz de alginato de cálcio em reatores tubulares. **X Simpósio Brasileiro de Engenharia Ambiental e Sanitária.** Recife- PE, 2019.

SILVA, M.C.C.P; SOUSA, J.T; PEARSON, H.W; LEITE, V.D. Remoção de nutrientes de efluente secundário oriundo de filtro de areia, usando a microalga *Chlorella* sp. imobilizada em

matriz de alginato de cálcio. **9º Encontro Internacional das Águas**. Universidade Católica de Pernambuco- 2017.

TAVARES, L. H. S.; ROCHA. O. Produção de Plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para Alimentação de Organismos Aquáticos. São Carlos. **Rima**. 2003 105p.

ZAGATTO, P.A. & ARAGÃO, M.A. Implantação de métodos para avaliação de algas tóxicas. São Paulo. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (**CETESB**). Relatório Técnico. 23p. 1992.