

III-418 - ANÁLISE DAS FLORAÇÕES DE MICROALGAS NO SISTEMA DE TRATAMENTO DE LIXIVIADO DA MURIBECA**Rodrigo Cavalcanti da Purificação**⁽¹⁾

Bacharel em Ciências Biológicas e Ambientais pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em Engenharia Civil pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Tutor a Distância do Instituto Federal de Pernambuco (IFPE). Pesquisador do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE)

Eduardo Antonio Maia Lins⁽²⁾

Doutor em Geotecnia Ambiental pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Professor da Faculdade Maurício de Nassau. Tutor a Distância do Instituto Federal de Pernambuco (IFPE). Pesquisador do Grupo de Resíduos Sólidos da UFPE. Coordenador técnico do monitoramento ambiental dos Aterros de Resíduos Sólidos Urbanos da Muribeca e Aguazinha - PE.

Cecília Maria Mota Silva Lins⁽³⁾

Graduada em Engenharia Civil pela UFPE. Mestre em Engenharia Civil - Geotecnia Ambiental pela UFPE; Doutoranda em Engenharia Civil - Geotecnia Ambiental pela UFPE. Membro do Grupo de Resíduos Sólidos (GRS-UFPE).

Silvana Nascimento Dias⁽⁴⁾

Graduada em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Mestre em botânica pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

José Fernando Thomé Jucá⁽⁵⁾

Prof. Deptº. Engª. Civil (UFPE). Doutor pela Universidad Politécnica de Madrid. Coordenador do Grupo de Resíduos Sólidos – GRS/UFPE. Coordenador do Programa de Monitoramento dos Aterros da Muribeca-PE e Aguazinha – Olinda. Coordenador dos Projetos PROSAB-FINEP, PRONEX e CHESF/UFPE. Consultor do Ministério das Cidades na área de resíduos sólidos.

Endereço⁽¹⁾: Av. Profº Luiz Freire, nº 1, Cidade Universitária - Recife - Pernambuco - CEP: 50.740-540 - Brasil - Tel: +55 (81) 3334 7238 - Fax: +55 (81) 3334 7221 - e-mail: rodrigo.purificacao@gmail.com.

RESUMO

Os efluentes lixiviados de Aterros de resíduos sólidos possuem características específicas, resultado da diversidade química e microbiológica dos resíduos depositados em cada aterro. Em termos gerais, é comum que estes lixiviados apresentem valores de DBO, DQO, fósforo, nitrogênio e metais pesados superiores aos encontrados em esgotos domésticos. Um sistema baseado em lagoas de estabilização é uma boa proposta para tratamento destes efluentes, tendo em vista as condições climáticas do país. Devido à grande carga poluidora, é frequente verificar essas lagoas em regime anaeróbio-anóxico. Esse regime apresenta níveis de Oxigênio Dissolvido baixos e é apropriado para que ocorram reações de desnitrificação, redução de sulfatos, formação de sulfetos, ácidos orgânicos e metano (os valores de ORP oscilam entre +100 e -400mV). Os principais problemas deste tipo de operação são a geração de maus odores e o surgimento de florações de microalgas e bactérias púrpuras. No aterro a Muribeca, as florações de microalgas foram acompanhadas juntamente com as variações dos parâmetros do efluente (pH, DBO, DQO, sólidos, óleos e graxas, nutrientes, metais, entre outros) e do ambiente (temperatura, índice de penetração de luz, oxigênio dissolvido). Ao se realizar o isolamento e identificação destas microalgas, foi possível fazer um levantamento de sua ecologia em sistemas aquáticos e analisar seu papel no tratamento do lixiviado, bem como propor soluções para gerenciar estes organismos no sistema de tratamento da Muribeca. Além disso, as espécies isoladas estão sendo utilizadas em estudos toxicológicos e trabalhos visando produção de hidrogênio combustível a partir da fotólise da água.

PALAVRAS-CHAVE: Microalgas, Isolamento, Resíduos Sólidos, Aterro Sanitário, Biotecnologia.

INTRODUÇÃO

O sistema de tratamento de lixiviado do Aterro Muribeca consiste em um sistema biológico constituído por lagoas de estabilização do tipo anaeróbia e facultativas com um tempo de detenção hidráulico total que pode variar desde 30 dias (para períodos de excedente hídrico) a mais de 160 dias (para períodos de déficit hídrico). Sabe-se que o longo tempo de detenção hidráulico conciliado a uma boa quantidade de nutrientes disponíveis no lixiviado podem proporcionar um ambiente adequado ao desenvolvimento de florações de microalgas no sistema de tratamento supracitado.

As microalgas são micro-organismos heterogêneos, usualmente microscópicos, unicelulares, coloniais ou filamentosos, coloridos e fotoautotróficos. Filogeneticamente, podem ser procarióticos ou eucarióticos. São seres ubíquos em sistemas aquáticos, envolvendo enorme diversidade de formas e funções ecológicas. De forma geral, apresentam elevadas taxas de crescimento, condição que proporciona alta produção de biomassa em intervalos de tempo curtos.

Muito interesse tem sido focado no potencial biotecnológico das microalgas, principalmente devido à identificação de diversas substâncias sintetizadas por estes organismos. A imensa biodiversidade e consequente variabilidade na composição bioquímica da biomassa obtida das culturas microalgais, aliadas ao emprego de melhoramento genético e ao estabelecimento de tecnologia de cultivo em grande escala, vêm permitindo que determinadas espécies sejam comercialmente utilizadas. Nesse sentido, cultivos de microalgas têm sido realizados visando à produção de biomassa tanto para uso na elaboração de alimentos quanto para a obtenção de compostos naturais com alto valor no mercado mundial.

Atualmente, muitos estudos também estão sendo conduzidos associando a utilização de microalgas para a produção de biocombustíveis associada à captura de CO₂ e ao tratamento de águas residuais, os quais são fundamentados na maior eficiência desses organismos para capturar energia solar e converter em biomassa, em comparação com as plantas. Dentro deste contexto, a produção de hidrogênio combustível através da biofotólise direta e indireta é uma das linhas mais recentes de pesquisa.

Este trabalho tem como objetivo a análise técnica das florações de microalgas no Tratamento de Lixiviado do Aterro da Muribeca - Pernambuco.

METODOLOGIA

A coleta e conservação do lixiviado seguiram as recomendações do Guia de Coleta e Conservação de Amostras de Água do CETESB de 1986. Foram coletadas amostras em todas as lagoas com a finalidade de preparar lâminas para verificação do fitoplâncton nativo. A Lagoa Anaeróbia foi utilizada como referência para determinação da densidade fitoplanctônica. O método de sedimentação com lugol com contagem em câmaras de Utermöhl (1958) foi utilizado para quantificação do fitoplâncton.

Isolamento

A espécie *Chlamydomonas polyphyrenoideum* foi isolada a partir de uma amostra ambiental de lixiviado de Aterro Sanitário, proveniente do aterro da Muribeca – PE. A adaptação ao meio de cultura foi realizada em duas fases: a primeira com lixiviado filtrado em membrana de 0,22µm e adição de nutrientes; a segunda com a utilização de meio Sager and Granick.

O isolamento foi realizado através da capacidade fototática de *Chlamydomonas*. Foi adicionada a cultura em um tubo e realizada a centrifugação a 2000rpm por 5 minutos. A seguir, o tubo foi revestido com papel alumínio, sendo deixada apenas uma abertura para entrada de luz na parte superior do tubo. Após uma hora em repouso, uma alíquota de 1 ml foi retirada da superfície do meio de cultura. Esta alíquota foi então diluída em outro tubo com meio de cultura estéril e o procedimento repetido mais duas vezes. Ao final, foi possível obter uma população monoespecífica de *Chlamydomonas polyphyrenoideum* para início da cultura.

Ensaio de toxicidade

Este ensaio foi uma adaptação da norma ABNT NBR 12648 (Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas *Chlorophyceae*). O método consistiu na repetição do teste anterior, fazendo uso de triplicatas e exposição de organismos-teste (neste caso a espécie *Chlamydomonas polyphyrenoideum*) a

diluições mais variadas de nanopartículas de TiO_2 comercial (P25), por um período de 96h. O efeito tóxico foi determinado pela inibição do crescimento da biomassa algácea nos recipientes-teste, comparado com o controle, sob as mesmas condições de ensaio.



Figura 01. Frascos para crescimento. A coloração amarelada é decorrente do antibiótico utilizado. As amostras não apresentaram crescimento durante os dias do ensaio.



Figura 02. Estante com fotoperíodo e a disposição das amostras nas prateleiras.

Pré-cultura e inóculo do ensaio

A pré-cultura de *Chlamydomonas polyphyrenoideum* foi iniciada 4 dias antes do ensaio, embora este preparo possa durar entre 3 e 7 dias, dependendo da espécie testada. A pré-cultura foi inoculada em meio líquido contendo as diluições da suspensão 1000mg/L de nanopartículas de TiO_2 (P25) testada, conforme a tabela 01:

Diariamente as culturas passavam por uma rotação na bancada, de forma a minimizar efeitos de preferência de iluminação em determinados locais. Foram adicionadas triplicatas ao ensaio, para garantir maior confiabilidade estatística aos resultados (tabela 01).

Tabela 1. Codificação das amostras testadas no ensaio de toxicidade crônica

Código	Referência
B	Meio de cultura Sager and Granick (Branco)
0,1	Meio de cultura Sager and Granick + TiO ₂ (0,1mg/L)
1	Meio de cultura Sager and Granick + TiO ₂ (1,0mg/L)
10	Meio de cultura Sager and Granick + TiO ₂ (10,0mg/L)
100	Meio de cultura Sager and Granick + TiO ₂ (100,0mg/L)

Contagem

As amostras foram coletadas a cada 24h e fixadas em lugol acético (50µL/mL). As contagens foram realizadas em câmara de Neubauer

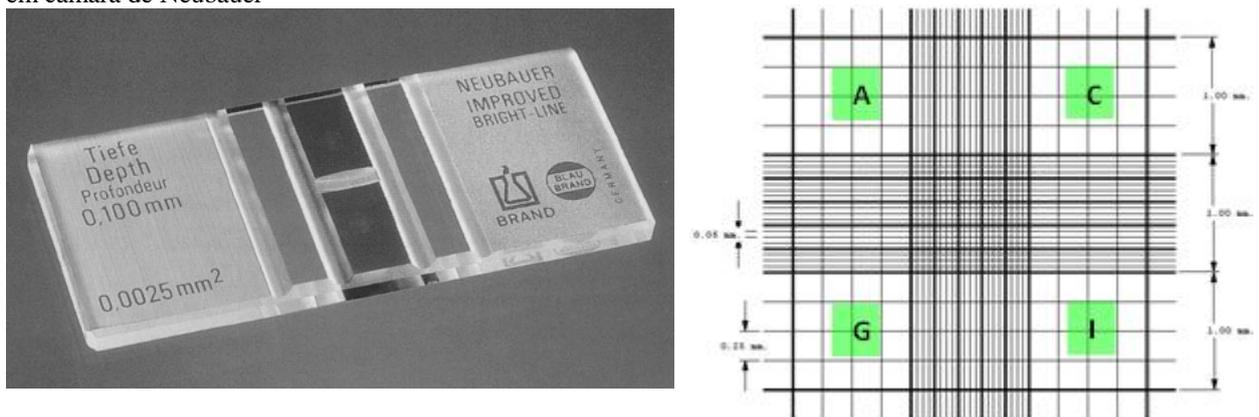


Figura 3. Câmara de Neubauer com detalhe na malha de contagem.

RESULTADOS

No monitoramento realizado nas lagoas de estabilização da estação de tratamento de lixo da Muribeca foi verificado um número extremamente reduzido de espécies, característico de um ambiente eutrófico. O gênero dominante em todas as lagoas foi *Chlamydomonas*, sendo a espécie *Chlamydomonas polyphyrenoides* (Prescott) o único representante encontrado. *Chlamydomonas* é um organismo mixotrófico e conhecido por estar presente em águas com altos níveis de matéria orgânica e baixos níveis de oxigênio dissolvido, como descrito por Almasi e Pescod (1996). Organismos mixotróficos possuem tendência para efetuarem metabolismo fototrófico na luz e heterotrófico no escuro, o que lhe confere uma grande resistência em ambientes com elevados níveis de turbidez, tais como as lagoas de estabilização de lixo.

Foram encontrados ainda, fitoflagelados desprovidos de pigmentação que, acredita-se tratar do gênero *Polytoma*, um organismo heterotrófico. Microalgas incolores (tais como *Polytoma*) têm necessidade de ser heterotróficas, ou seja, metabólitos externos constituem um requisito absolutamente necessário e sua nutrição é de natureza obrigatoriamente quimiotrófica. Estas podem ser também fagotróficas, ou seja, absorvem partículas de nutrientes através de vacúolos celulares, apresentando, portanto, comportamento semelhante ao de alguns protozoários, não requerendo, assim, fontes luminosas para seu metabolismo.

A presença de bactérias de enxofre foi muito comum durante os meses de monitoramento e indicam que as Lagoas encontram-se mais anóxicas que anaeróbias. Isso ocorre devido à redução de sulfato nesses tanques.

Também foi verificada a dominância de representantes do gênero *Chlorella*. *Chlorella* sp. é capaz de resistir a águas contaminadas com mercúrio, cádmio ou chumbo graças às suas inúmeras proteínas. Os mucopolissacarídeos presentes na sua parede celular que são capazes de absorver grandes quantidades de metais tóxicos. Um livro escrito sobre a indústria extrativa mineral, "Absorção de Metais Pesados", detalha como mineiros usam este organismo para aumentar o rendimento de minas de metais preciosos. Existem muitos

trabalhos que tentam usar esta sua capacidade para descontaminar efluentes com metais pesados em estações de tratamento.

Chlamydomonas e *Polytoma* ainda estão presentes nas amostras, mas não são mais dominantes no meio. É possível ver também algumas cianobactérias, que ainda não foram devidamente identificadas.

Para as amostras de *Chlamydomonas* isoladas, o crescimento ocorreu em todas as amostras testadas, o que sugere que as nanopartículas não possuem efeito letal sobre estas algas. Isso pode justificar seu rápido crescimento no lixiviado. No entanto, todas as amostras testadas apresentaram inibição do crescimento em relação ao controle. Esta inibição chegou próximo aos 40% quando a concentração foi de 10,0mg/L, como é possível verificar na Tabela 2.

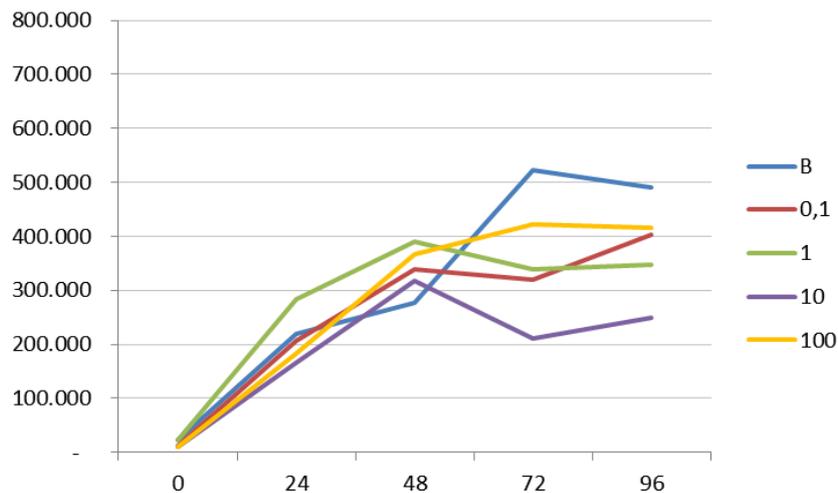


Figura 4. Curva de crescimento de *Chlamydomonas* nas amostras testadas.

Tabela 2. Percentual de inibição do crescimento celular no ensaio de toxicidade crônica

Tratamento	0,1	1	10	100
IC - Inibição do crescimento (%)	16,30	9,78	37,83	8,69

CONCLUSÕES

1. As microalgas verificadas são organismos autóctones, ou seja, provenientes do próprio local, do solo e das águas dos rios da proximidade que, com sua incrível capacidade adaptativa, conseguem sobreviver e se desenvolver no efluente das lagoas;
2. As florações de microalgas e bactérias de enxofre são indicativas de sobrecarga de nutrientes do sistema de tratamento. Sua presença acentuada em todas as Lagoas mostra que não há uma real variação entre os níveis de tratamento e que a fase aeróbia nas Lagoas Facultativas não atua na sua plenitude;
3. As freqüentes florações de microalgas associadas ou não a bactérias púrpuras de enxofre são fenômenos já verificados em outros sistemas anaeróbio-anóxicos (VEENSTRA et al 1994) (IGALLINELLA et al 2002) e são decorrentes de dois fatores:
 - a. A grande quantidade de metais pesados, turbidez e outros fatores que, atuando como agentes de seleção permitem que os seres mais resistentes estejam livres de concorrentes;
 - b. O ambiente eutrófico, que disponibiliza grandes quantidades de nutrientes no meio, fazendo com que as espécies remanescentes reproduzam-se rapidamente desenvolvendo um grande número de indivíduos;

4. As espécies encontradas não oferecem risco à saúde humana, uma vez que não têm a característica de produzirem substâncias tóxicas. Apresentam ainda, uma incrível capacidade de absorver metais pesados, que poderia ser mais bem explorada visando a melhoria na eficiência do tratamento;

As amostras serão preparadas para microscopia eletrônica de varredura e transmissão, com o intuito de verificar se as nanopartículas foram capazes de penetrar nas células. A composição do material extracelular será também investigada, pois tem-se a hipótese que as microalgas secretam mucilagem para coagular as nanopartículas, minimizando seu efeito inibitório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMASI A. & PESCOD.M.B. Wastewater Treatment Mechanisms in Anoxic Stabilization Ponds. Wat. Sci. Tech. Vol. 33 N° 7 pp. 125-132, 1996.
2. INGALLINELLA A.M., SANGUINETTI, G. Cotreatment of sewage and septage in waste stabilization ponds. Wat. Sci.Tech. Vol. 45 N°1 pp. 9-15.
3. MELIS, A., 2002, Green alga hydrogen production: progress, challenges and prospects. International Journal of Hydrogen Energy 27, 1217-1228.
4. SACRAMENTO, E.M., 2007. Um Sistema de Energia a Hidrogênio-Solar-Eólico para o Estado do Ceará. Dissertação. Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.
5. VEENSTRA, S., AL-NOZAILY F.A., ALAERTS G.J. Purple Non-Sulfur Bacteria and Their Influence on Waste Stabilisation Pond Performance in the Yemen Republic. Wat. Sci. Tech. Vol. 31 N°12 pp. 141-149, 1995.