

## II-147 - REMOÇÃO DE NUTRIENTE EM EFLUENTE SANITÁRIO UTILIZANDO MICROALGA IMOBILIZADA EM ALGINATO DE CÁLCIO

**Narcísio Cabral de Araújo<sup>(1)</sup>**

Engenheiro Sanitarista e Ambiental graduado pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Mestre em Engenharia Civil e Ambiental pela Universidade Federal de Campina Grande e Doutorando em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

**José Tavares de Sousa**

Engenheiro Químico e Mestre em Engenharia Civil pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Doutor em engenharia Civil pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Professor da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

**Howard William Pearson**

Botânico graduado pela Universidade de Londres e Doutor em Microbiologia do Meio Ambiente pela Universidade de Londres. Professor da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

**Valderi Duarte Leite**

Engenheiro Químico e Mestre em Engenharia Civil pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Doutor em engenharia Civil pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Professor da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Inácio Heleno da Silva, 38 – Distrito de São José da Mata – Campina Grande - PB - CEP: 58441-000 - Brasil - Tel: (83) 9937 - 0934 - E-mail: narcisioaraujo@gmail.com.

### RESUMO

A pesquisa foi realizada na estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários, localizada no bairro do Tambor na Cidade de Campina Grande, estado da Paraíba, nordeste do Brasil. O objetivo foi avaliar a remoção de fósforo em efluente sanitário, utilizando biorreatores tubulares com microalga imobilizada em matriz de alginato de cálcio. A microalga utilizada foi a *Chlorella sp.*, cultivada em Meio Basal Bold's e imobilizada em esferas de alginato de cálcio, preparada na concentração de 4%. Foram realizados cinco experimentos em ambiente com temperatura controlada a 27 °C e iluminação artificial de duas lâmpadas fluorescentes. A alimentação era em fluxo ascendente e sem recirculação do efluente. Os regimes de alimentação eram em batelada intermitente, com tempo de detenção hidráulica de 5 horas. As microalgas imobilizadas mostraram-se eficazes na remoção do nutriente no efluente sanitário, com mais 88% em eficiência de remoção no fósforo do efluente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fósforo, Biorreator, Clorofila, *Chlorella sp.*

### INTRODUÇÃO

As algas são organismos pertencentes ao reino vegetal que compreendem um grupo muito diverso de organismos fotossintetizadores (South e Hittick, 1987). As algas ocorrem, em grande abundância, nos oceanos, nos mares, nos lagos salgados, nos lagos de água doce, nos açudes e nas correntes (Raven *et al.*, 1996). Segundo Marcon (2005) e Borghetti (2009) nas lagoas de estabilização, se verifica a predominância de algas verdes (*Chlorophyta*), destacando-se as microalgas do gênero *Chlorella sp.*, que são microrganismos unicelulares, clorofilados, sem flagelos e com grande habilidade de realizar fotossíntese. As algas desempenham um papel fundamental no funcionamento nos sistemas de lagoas de estabilização, pois elas aumentam a concentração de oxigênio dissolvido através da fotossíntese, que é necessário ao metabolismo das bactérias aeróbias heterotróficas; consomem o dióxido de carbono produzido pela oxidação bacteriana da matéria orgânica, elevando o pH do meio e removem nutrientes da água através de seu metabolismo e crescimento celular (Marcon, 2005; Dinis *et al.*, 2004).

Em conformidade com Silva (2007), as maiores limitações práticas no tratamento de águas residuárias utilizando algas é a colheita e separação da biomassa proveniente da descarga de água tratada, então a

tecnologia de algas imobilizadas para esta finalidade permite uma maior flexibilidade no desenho e construção de biorreatores, quando comparado com sistemas convencionais que utilizam algas em suspensão.

A imobilização de células ou enzimas representa uma alternativa para a condução de bioprocessos uma vez que, teoricamente, os biocatalisadores imobilizados ficam retidos para serem utilizados por tempo indefinido (Canilha *et al.*, 2006). Segundo Covizzi *et al.* (2007), as técnicas clássicas de imobilização celular podem ser classificadas em naturais e artificiais. As primeiras são as que incluem a formação de biofilmes e a adesão/adsorção microbiana em suportes sintéticos ou naturais, ou seja, ocorrem espontaneamente por meio de interações eletrostáticas. As artificiais são aquelas que incluem a encapsulação em matrizes como alginato de cálcio ou uso de agentes ligantes, ou seja, as células são ligadas às matrizes por ligações covalentes, utilizando-se agentes ligantes como glutaraldeído ou carbodiimida. Os mesmos autores citam os seguintes tipos de imobilização celular: adsorção, ligação eletrostática e covalente, engaiolamento em matriz porosa, floculação natural e artificial, microencapsulação interfacial e contenção entre micromembranas. A encapsulação, ou mais apropriado, imobilização em partículas, é um processo pelo qual células são retidas dentro de esferas poliméricas semipermeáveis, sendo as células uniformemente distribuídas dentro delas (Rodrigues, 2010). O método de engaiolamento está baseado na inclusão artificial das células, que ficam inseridas em uma malha rígida, ou semi-rígida, que impede a difusão destas para o meio de cultivo (Covizzi *et al.*, 2007).

Em conformidade com o exposto acima a presente pesquisa objetivou avaliar a remoção de fósforo, em função do tempo de detenção hidráulica (TDH), de efluente secundário em biorreatores tubulares com microalga imobilizada em matriz de alginato de cálcio.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O sistema experimental foi instalado na estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários – EXTRABES, localizada no bairro do Tambor na cidade de Campina Grande, estado da Paraíba, nordeste do Brasil, com coordenadas geográficas de 7° 13' 50" S e 35° 52' 52" W e 551 m de altitude acima do nível do mar.

A microalga utilizada foi a *Chlorella sp.*, coletada em uma lagoa de estabilização, com dimensões de 1m de largura, 5 m de comprimento e 50 cm de profundidade situada na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários – EXTRABES, as quais foram isoladas em placas de Petri contendo ágar à 2%. Portanto, coletou-se e centrifugou-se 100 mL de água da lagoa de estabilização contendo células de algas as quais, foram inoculadas em tubos de ensaio pré-esterilizados contendo Meio Basal Bold's (MBB) com Agar a 2%. Estes foram mantidas em fotoperíodo de 24 horas em sala de cultivo com temperatura controlada (27 °C) sob iluminação de lâmpadas fluorescentes de 40 watts. Passadas três semanas, identificaram-se o gênero algal em um microscópio eletrônico e procederam-se repicando em novos tubos de ensaio contendo o MBB com ágar a 2%. Três semanas depois, procederam-se com os repiques da microalga em 100 mL de MBB líquido, o qual foi colocado em uma mesa rotatória com 80 rev. min<sup>-1</sup> em erlenmeyers de 250 mL. Depois de mais três semanas, centrifugou-se todo o meio de cultivo, recolhendo-se 10 mL de algas concentradas que foram adicionadas em 500 mL do MBB, e colocadas em câmaras de cultivo, aerada com uma bomba de aquário.

O sistema de cultivo era composto por 4 erlenmeyers de 2 L, contendo 1600 mL de Meio Basal Bold's os quais eram repicadas com algas (*Chlorella sp.*) na proporção de 2:100 (2 mL de microalgas para cada 100 mL de MBB – Meio Basal Bold's), na fase estacionária e mantidos sob aeração de um nebulizador. Ao transcorrer 7 dias de cultivo, coletavam-se o material e centrifugavam-se a 3000 rpm por 15 minutos até se obter o extrato algal, que era homogeneizado manualmente em alginato de sódio, anteriormente preparado. O alginato de sódio era preparado na concentração de 4%. Misturavam-se o extrato algal na suspensão de alginato para obter as esferas. A mistura era vertida em uma bureta de 50 mL, a qual ia gotejando lentamente em um béquer de 1000 mL, contendo solução de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) a 0,4 M, sob agitação constante de um agitador magnético.

Nesse processo formavam-se as esferas de alginato de cálcio com as microalgas imobilizadas. As esferas apresentaram diâmetro médio de 4 mm, massa média de 0,371 g e volume aproximado de 33,51 mm<sup>3</sup>. Os biorreatores eram de formato cilíndrico, vidro pyrex transparente com 1,5 m de comprimento, 3 mm de

espessura por 30 mm de diâmetro interno e volume total de 1059,75 mL por tubo, que eram preenchidos com 500 mL, aproximadamente 9014,2 esferas com algas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio a 4% e alimentados através de uma bomba de pulso com efluente de esgoto sanitário oriundo de filtro de areia intermitente (Figura 1).

Foram realizados cinco experimentos com temperatura controlada de 27 °C e iluminação artificial de duas lâmpadas fluorescentes.

A alimentação do biorreator era de fluxo descendente sem recirculação do efluente, com regimes de alimentação eram em batelada intermitente em tempo de detenção hidráulica (TDH) de 5 horas, ou seja, a cada hora coletavam-se uma alíquota de 40 mL para posterior análise.

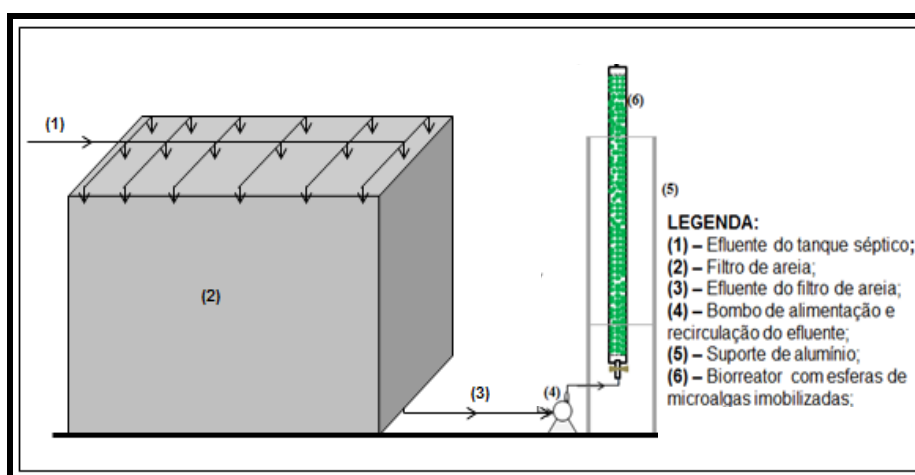


Figura 1: Esquema do sistema experimental monitorado na pesquisa.

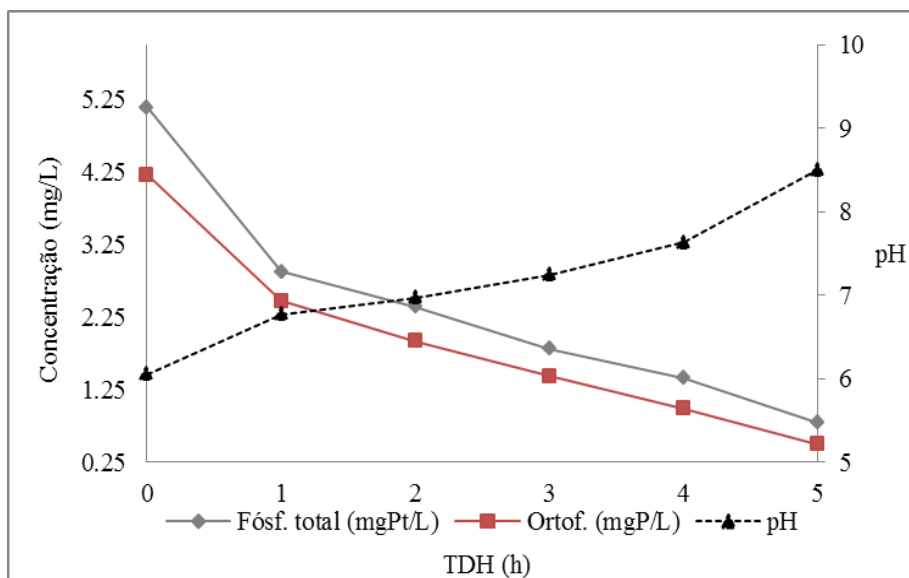
Foram analisados os seguintes parâmetros: pH; Clorofila 'a'; Fósforo total e Ortofosfato. As análises seguiram a metodologia preconizada no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração média de clorofila 'a' e pH no meio de cultivo, foi de 431,9 µg/mL e 9,54, respectivamente. A atividade fotossintética no meio de cultivo reduziu o teor de CO<sub>2</sub> elevando o pH e a concentração de células. Para as esferas de aginato de cálcio com a *Chlorella sp.* imobilizada a concentração média de clorofila 'a' encontrada nas análises foi de 5,94 µg/esferas.

Marcon (2005) utilizando a microalga *Chlorella* imobilizada na mesma matriz utilizada na pesquisa, sendo que para remoção de coliformes fecais de afluentes contaminados em laboratório, encontrou uma concentração média de 3,7µg/esfera de clorofila 'a' que foi um pouco inferior a encontrada na presente pesquisa (5,94 µg/esfera).

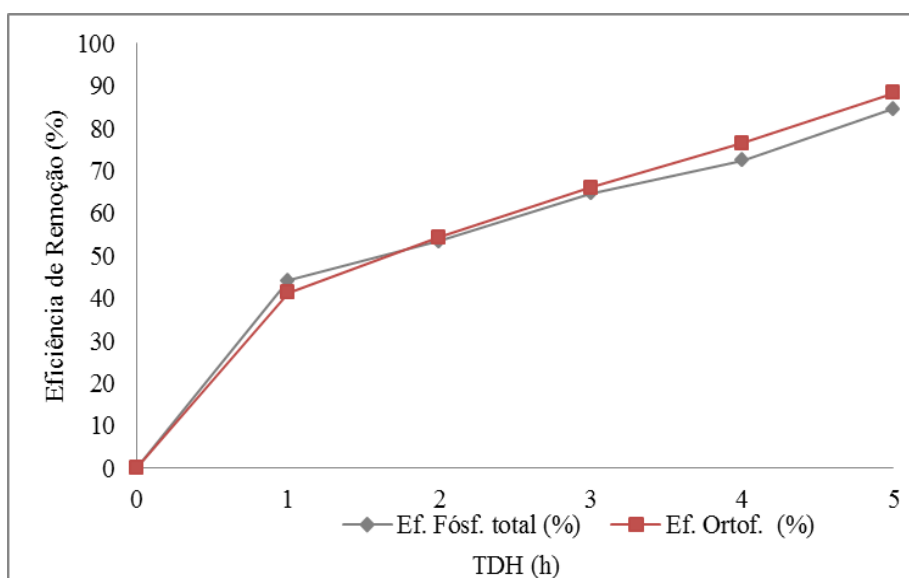
A Figura 2 ilustra a variação média na remoção do fósforo total, ortofosfato e crescimento do pH em função do tempo, no sistema com microalgas imobilizadas. As concentrações de fósforo total foram de 5,14; 2,87; 2,39; 1,81; 1,41; 0,79 mgP/L e 4,21; 2,47; 1,92; 1,43; 0,99; 0,5 mgP/L para o ortofosfato durante o TDH de 0 a 5 horas de contato, respectivamente. O pH apresentou valores médios de 6,05; 6,77; 6,97; 7,24; 7,63 e 8,5 para os TDH de 0 a 5 horas, respectivamente.



**Figura 2: Variação nas concentrações de fósforo total (Pt), ortofosfato (P-PO<sub>4</sub>) e aumento do pH do efluente.**

Na Figura 3 estão as eficiências de remoção do fósforo total e ortofosfato durante as cinco horas de contato do efluente com as microalgas. Como ilustra a Figura 3, com três horas de contato as eficiências de remoção foram de 64, 79 e 84,63% para o fósforo e ortofosfato com pH de 7,24 (Figura 2), respectivamente.

No tempo máximo (5 h) as concentrações chegaram a 0,79 e 0,5 mg/L (Figura 2), o que corresponde a eficiências de remoção de 84,63 e 88,36 % (Figura 3) para o fosforo total e ortofosfato com aumento do pH para 8,5, respectivamente.



**Figura 3: Eficiência de remoção do fósforo e ortofosfato em função do tempo.**

Comparando-se os resultados obtidos na pesquisa, com outros, pode-se observar que tais resultados são coerentes com os encontrados por outros autores, como Valderrama *et al.* (2002), que conseguiram remover 28% de fósforo em um período de quatro dias de cultivo com a *Chlorella vulgaris* em efluente industrial e Méndez (2003), que obteve remoções de 61,68% de fósforo pela *Chlorella sp.* em águas residuais. Porém, Lau *et al.* (1998), obteve uma eficiência de 100% na remoção de fósforo utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* imobilizada em carrageno. Por outro lado, Robinson (1998) utilizando a *Chlorella emersonii* imobilizada em

suporte de alginato, obteve eficiência de remoção de fósforo na ordem de 30, 60 e 90% após, 2, 4 e 8 horas respectivamente.

## CONCLUSÃO

Nas condições em que foram realizados os experimentos, sob iluminação contínua e temperatura de 27 °C, as microalgas imobilizadas em matriz de alginato de cálcio mostraram-se eficaz na remoção de nutrientes de efluentes sanitários, com remoção de mais de 88% do fósforo do efluente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. AWWA. WPCF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 15.ed. Washington, DC. American Public Health Association. American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 1998.
2. BORGHETTI, I. A. Avaliação do Crescimento da Microalga *Chlorella minutíssima* em Meio de Cultura com Diferentes Concentrações de Manipueira. 2009. 113.f. Dissertação (Mestre em Processos Biotecnológicos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos, Setor de Tecnologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2009.
3. CANILHA, L.; CARVALHO, W. & SILVA, J. B. A. Biocatalizadores imobilizados: uso de células e enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos. *Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento*. n. 36, p. 48 – 57, 2006.
4. COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, R. Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, n. 2, p. 143 – 160. Londrina, 2007.
5. DINIS, M. A.; MONTEIRO, A & BOAVENTURA, R. Tratamento de Águas Residuais: O Papel das Microalgas. 2004. Faculdade de Ciência e Tecnologia. Disponível em: < <https://bdigital.ufp.pt/dspace/bitstream/10284/.../41FCT2004.pdf>>. Acesso em 01 de março de 2011.
6. LAU, P. S.; TAM, N. F. Y.; WONG, Y. S. Carrageenan as a Matrix for Immobilizing Microalgal cells for Wastewater Nutrients Removal. In: Wong, Y. S. e Tam, N. F. Y. *Wastewater Treatment with Algae*. Springer-Verlag. Vol. 9, p. 145 -163, 1998.
7. MARCON, A. E. Remoção de coliformes fecais com microalgas (*Chlorella*) imobilizadas em matriz de Alginato de cálcio. 2005. 62f. Dissertação (Mestrado para obtenção do título de Mestre em Engenharia Sanitária) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - RN, 2005.
8. MÉNDEZ, N. J. Evaluacion de la remoción de fosforo y nitrogenio de aguas residuales por el alga *Chlorella* ssp. *Revista Institucional de la Facultad de Salud.Colombia*. 2, p. 41-46. 2003.
9. ROBINSON, P. K. Immobilized Algal Technology for Wasterwater Treatment Purpeses. In: Wong, Y. S. e Tam, N. F. Y. (Ed). *Wasterwater Treatment with Algae*. Springer-Verlag, 1, p. 1 – 16, 1998.
10. RAVEN, P. R.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia vegetal*. 5. Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
11. RODRIGUES, H. D. P. Potencial bioassortivo e biodegradativo das células de “*saccharomyces cerevisiae*” livres e imobilizadas em alginato de cálcio na remoção de corantes têxteis. 2010. 89.f. Dissertação (Mestre em Ciências Biológicas - área de Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, São Paulo – SP, 2010.
12. SILVA, S. A. P. Biorremediação em águas residuais: Remoção de fósforo utilizando microalgas *Chlorella vulgaris* imobilizadas em meio de alginato de sódio. 2007. 72.f. Dissertação (Mestre em Hidrobiologia) – Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Portugal, 2007.
13. SOUTH, G.R.; HITTICK, A. *Introduction to Phycology*. Oxford: Blackwell Scientific, 1987, 341P.
14. VALDERRAMA, L. T. et al. Treatment of recalcitrant wastewater from ethanol and citric acid production using the microalgae *Chlorella vulgaris* and the macrophite *Lemna minuscula*. *Water Research*, v. 36, n. 17, p. 4185-4192, 2002.