

## II-054 – CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS EM SISTEMA DE REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO DE LIXIVIADO DE ATERRO

**Fernanda Bezerra Mangili<sup>(1)</sup>**

Graduanda em Engenharia Ambiental pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Londrina.

**Ana Carolina Pierotti Jacobs**

Graduanda em Engenharia Ambiental pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Londrina.

**Lucas Alves Maroubo**

Graduando em Engenharia Ambiental pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Londrina.

**Deize Dias Lopes**

Engenheira Civil pela Universidade Federal de Santa Maria –UFSM. Mestre em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

**Kátia Valéria Marques Cardoso Prates**

Bióloga pela Universidade Federal de São Carlos – UFSCar. Mestre em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Doutora em Ciências da Engenharia Ambiental pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Barão do Rio Branco, 542 - Centro - Fartura - SP - CEP: 18870-000 - Brasil - Tel: (14) 3382-2361 - e-mail: [fermangili@gmail.com](mailto:fermangili@gmail.com)

### RESUMO

O objetivo desse estudo foi caracterizar e quantificar a população de microrganismos presentes em um reator operado com lixiviado de aterro sanitário em sistema de lodos ativados para remoção biológica de nitrogênio. Durante o estudo foram realizadas três coletas de amostra ao longo de quatro meses. As amostras foram submetidas a experimentos de NMP de bactérias nitrificantes e desnitrificantes e quantificação de bactérias heterotróficas. As amostras foram analisadas pelas técnicas da microscópica a fresco e de coloração de Gram no mesmo dia da coleta, e dos tubos que apresentavam resposta positiva nos ensaios de NMP das bactérias nitrificantes e desnitrificantes e nas placas de bactérias heterotróficas. Os resultados obtidos para os experimentos de NMP demonstram que apenas na segunda análise ocorreu o processo de via curta, pois na primeira o reator estava no início da adaptação, e na terceira apresentou condições menos favoráveis para o crescimento das bactérias, porém as bactérias desnitrificantes não foram afetadas de forma expressiva por serem heterotróficas. Após as análises microscópicas foi possível observar para as bactérias heterotróficas, morfologias de bacilos e cocos, gram positivos e negativos, para as bactérias desnitrificantes observou-se bacilos gram positivos e as bactérias nitrificantes como bacilos gram negativos. Foram observados organismos da classe dos rotíferos na primeira e segunda coleta e protozoários do tipo ameba (tecameba) somente na primeira. Os resultados obtidos demonstram que a variedade da biota do efluente está diretamente relacionada com as características do meio, onde a primeira amostra encontrava-se com boas características de formação de floco e a última o reator operava com condições não favoráveis a formação de flocos. Percebeu-se que as bactérias heterotróficas se adaptaram bem ao efluente e as condições operacionais do reator.

**PALAVRAS-CHAVE:** NMP, nitrificantes, desnitrificantes, bactérias heterotróficas.

### INTRODUÇÃO

No Brasil, cerca de 182 mil toneladas de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) são coletados diariamente. A produção *per capita* de resíduos domésticos em áreas urbanas, no país, varia de 0,8 kg a 1,2 kg/hab/dia, dependendo do porte da cidade (ABRELPE, 2010), impondo demandas cada vez maiores de áreas para o tratamento e a destinação final destes, tanto pela quantidade quanto pelas características dos mesmos.

Entre as alternativas para a disposição final dos resíduos sólidos urbanos têm-se os aterros sanitários, que permitem minimizar os efeitos gerados pelos derivados dos RSU (OLIVEIRA e SILVA, 2004). Porém,

minimizar não significa eliminar, sendo que apenas o aterro não é capaz de resolver todos os problemas gerados pelos resíduos sólidos urbanos (RSU) (SOUTO, 2009).

Entre os problemas, pode-se destacar a produção de lixiviado, líquido escuro e fétido resultante da interação do processo de biodegradação da fração orgânica dos resíduos sólidos e da infiltração de águas pluviais, que solubilizam componentes orgânicos e inorgânicos, podendo poluir o solo e as águas superficiais e subterrâneas.

No lixiviado pode-se encontrar diversos tipos de poluentes dissolvidos ou particulados como carbonos orgânicos e inorgânicos, ácidos voláteis, óleos e graxas, fósforos, enxofres, cloretos, cianetos, substâncias húmicas, compostos inorgânicos específicos, metais pesados, microrganismos e nitrogênio. Por isso, o lixiviado é considerado um tipo de água residuária com grande potencial de impacto ambiental.

A concentração de nitrogênio em lixiviados não é particularmente dependente da fase de decomposição dos resíduos, o que muda é a forma como esse elemento se apresenta ao longo do tempo, por isso o mesmo é citado por diversos pesquisadores como o componente mais significativo a longo prazo no lixiviado. O nitrogênio em suas diversas formas, quando lançado nos cursos d'água de maneira inadequada, pode ser responsável por impactos ambientais, como a eutrofização e afetar a vida aquática uma vez que é facilmente oxidado por organismos nitrificantes.

A técnica mais utilizada para remoção de nitrogênio de águas residuárias é o processo de nitrificação/desnitrificação. No entanto, em águas residuárias com altas concentrações de nitrogênio, como os lixiviados de aterro de RSU, pode ocorrer inibição do processo de nitrificação, principalmente na etapa de oxidação do nitrito, com consequente acúmulo deste. Por isso, no caso de lixiviados a remoção de nitrogênio via nitrito (via curta) se mostra uma alternativa promissora, porém estudos indicam que ao longo do tempo pode haver a adaptação dos microrganismos envolvidos e, assim, a oxidação do nitrito a nitrato. Segundo Annachatre e Sinha (2006), este método economiza até 40% de DQO no processo de desnitrificação, que por consequência deverá reduzir a necessidade de uma fonte externa de carbono orgânico. Menor tempo de retenção hidráulica deve permitir a redução do volume dos reatores, sendo assim, diminuir os custos de investimento. Redução de até 25% na demanda de oxigênio na nitrificação.

Considerando toda a problemática que envolve o tratamento do lixiviado, o presente trabalho visou estudar a diversidade microbiológica presente (caracterização e quantificação) em um sistema de lodos ativados de lodo único, composto de reator anóxico seguido de aeróbio, para remoção biológica de nitrogênio de lixiviado de aterro de RSU.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, *Campus* Londrina, e no laboratório de Saneamento da Universidade Estadual de Londrina – UEL.

A instalação experimental, composta de reator anóxico (27L) e aeróbio (90L), decantador (19,6L) e acessórios, foi alimentada com lixiviado proveniente do aterro de Londrina-PR. Foram realizadas três coletas ao longo de quatro meses.

O monitoramento microbiológico das amostras do sistema aconteceu seguindo a metodologia utilizada por Mendonça (2002). No presente trabalho foi utilizada a metodologia da estimativa do Número Mais Provável (NMP) de organismos nitrificantes - bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e bactérias oxidadoras de nitrito (BON) - e desnitrificantes no final de cada condição operacional e quantificação das Unidades Formadoras de Colônia (UFC/ml) de bactérias heterotróficas, utilizando a Tabela Padrão de Probabilidade segundo APHA, AWWA, WEF, 2005.

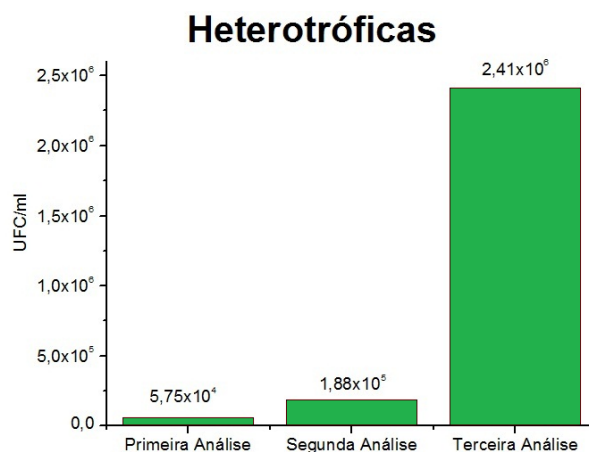
Foi realizada microscopia óptica a fresco e com coloração de Gram da amostra logo após a coleta. Analisaram-se também os resultados positivos depois da quantificação do número mais provável (NMP) dos organismos nitrificantes (bactérias oxidadoras de amônia e nitrito) e desnitrificantes, e quantificação das unidades formadoras de colônia de bactérias heterotróficas (UFC/ml).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

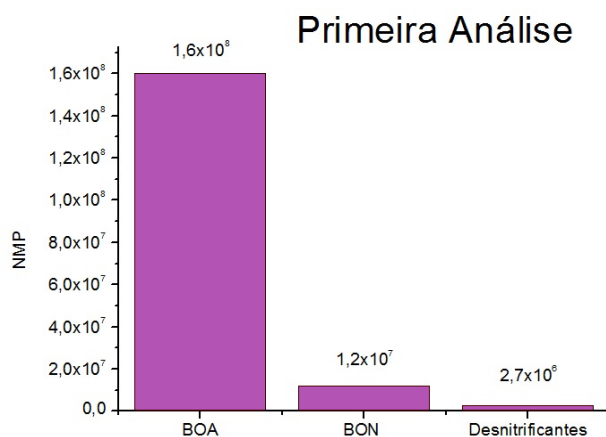
Os resultados da contagem de UFC/ml e NMP nas três coletas de amostra dos microrganismos associados à remoção biológica de nitrogênio estão demonstrados no Quadro 01 e Figuras 01, 02, 03 e 04.

**Quadro 01: NMP das bactérias nitrificantes e desnitrificantes e UFC das bactérias heterotróficas obtidos através das análises.**

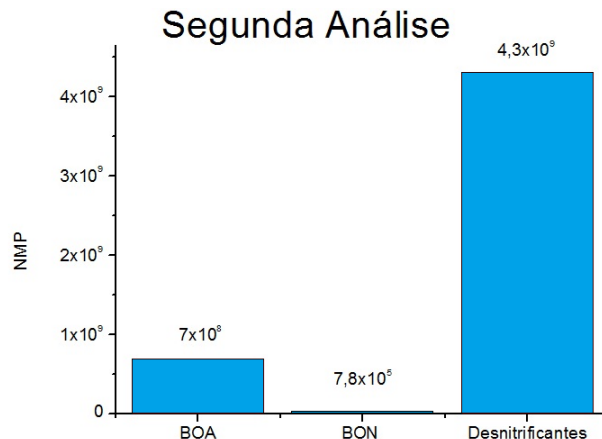
Análises	BOA	BOM	DESNITRIFICANTES	HETEROTRÓFICAS
Primeira	$1,6 \times 10^8$	$1,2 \times 10^7$	$2,7 \times 10^6$	$5,75 \times 10^4$ (UFC/mL)
Segunda	$7,0 \times 10^8$	$7,8 \times 10^5$	$4,3 \times 10^9$	$1,88 \times 10^5$ (UFC/mL)
Terceira	$4,9 \times 10^6$	$2,8 \times 10^8$	$4,8 \times 10^8$	$2,41 \times 10^6$ (UFC/mL)



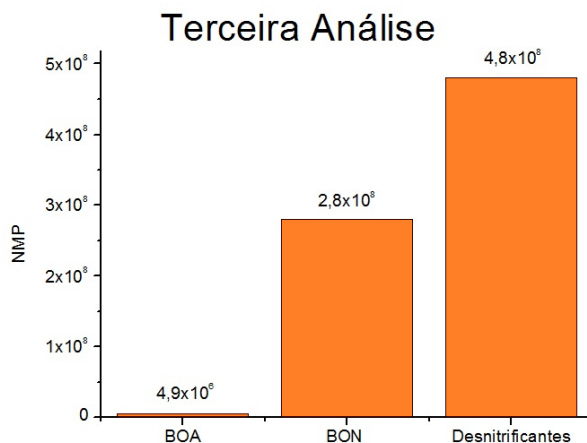
**Figura 01: UFC/ml dos microrganismos heterotróficos presentes nas amostras.**



**Figura 02: NMP dos microrganismos da 1ª Análise**



**Figura 03: NMP dos microrganismos da 2ª Análise**



**Figura 04: NMP dos microrganismos da 3ª Análise.**

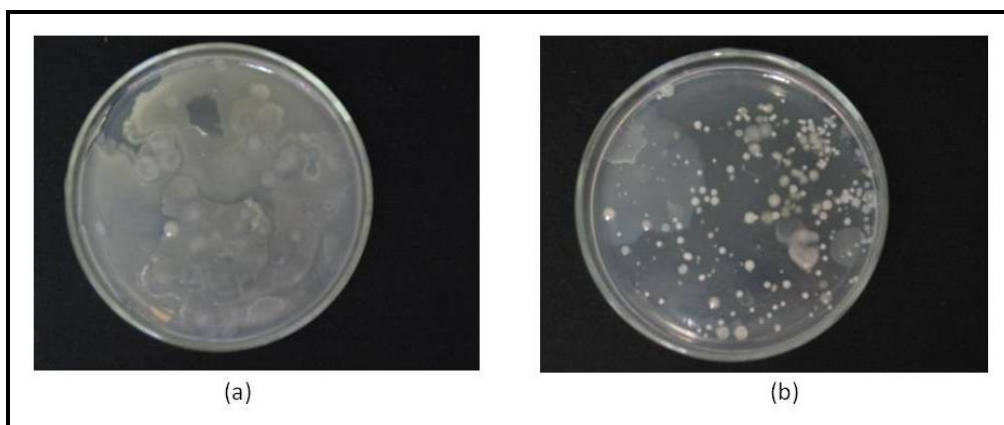
A análise do Quadro 01 e da Figura 01 permite verificar que ao longo do período de operação do reator o valor das UFC/ml das bactérias heterotróficas foi aumentando, indicando que este grupo foi se adaptando as condições presentes no reator. Pode-se concluir que a matéria orgânica presente no lixiviado e o sistema de operação do reator foram favoráveis a este grupo de microrganismos.

No processo de desnitrificação, cada óxido de nitrogênio é catalizado por uma enzima específica, como óxido de nitrogênio redutase (nitrito redutase, nitrato redutase e, nitroso redutase entre outros). Na fase da redução as formas oxidadas do nitrogênio servem para a respiração, como acceptor de elétrons. Logo as desnitrificantes podem utilizar o nitrito e o nitrato presentes ou oxidados por outras espécies de bactérias no lixiviado, para realizar o processo, esse fator pode explicar o motivo das bactérias desnitrificantes apresentarem-se em número superior ao das bactérias nitrificantes, resultado da segunda (Quadro 01 e Figura 03) e terceira análise (Quadro 01 e Figura 04). Porém na primeira análise (Quadro 01 e Figura 02) o NMP das bactérias desnitrificantes apresentou-se inferior ao das bactérias nitrificantes, isso pode ser justificado pela baixa concentração de receptor de elétrons (nitrito e/ou nitrato presente no meio) em função do início das atividades das bactérias nitrificantes, que são quimiolitotróficas tendo velocidade de crescimento menor que as heterotróficas.

O processo da via curta (nitrito), pode ser observado no momento da segunda coleta de amostra (Quadro 01 e Figura 03), pois o NMP de BON é inferior a BOA, indicando que pode ter ocorrido transformação do nitrogênio amoniacal em nitrito, e este sendo diretamente utilizado pelas desnitrificantes, sendo uma pequena taxa utilizada pelas bactérias oxidadoras de nitrito.

Na terceira análise a condição do reator não se apresentou favorável para a realização do processo via curta, isso influenciou a BON obter NMP maior que a BOA, porém não afetou de maneira expressiva as bactérias desnitrificantes, pelo fato já mencionado que as desnitrificantes utilizam tanto a via nitrito quanto via nitrato para chegar a  $N_2$ .

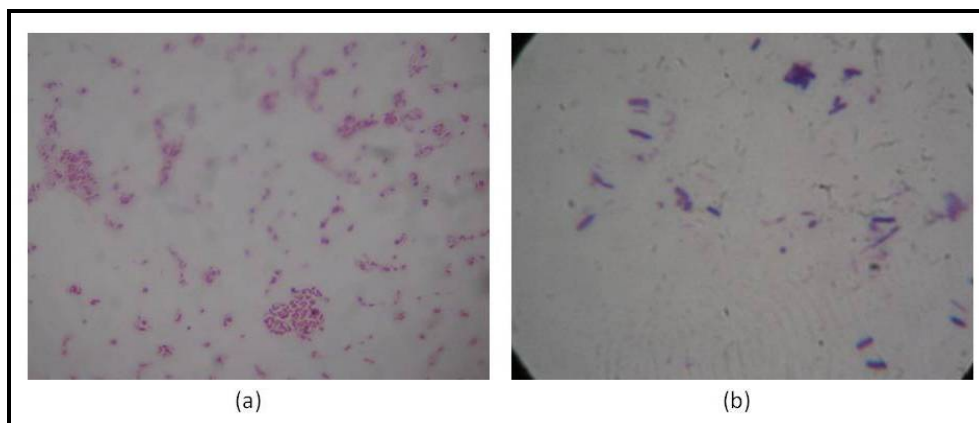
Pela análise dos resultados da caracterização qualitativa dos ensaios das placas das bactérias heterotróficas pode-se observar que as colônias apresentaram um crescimento diferenciado com predominância de colônias cobrindo toda a superfície das placas com coloração branca nas menores diluições ( $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ) e crescimento delimitado com colorações variando do branco ao amarelo nas maiores diluições. As principais morfologias dos microrganismos observados com coloração de Gram foram bacilos, cocos, diplococos, estreptococos, gram positivos e gram negativos (Figura 05).



**Figura 05:** Colônias observadas após incubação referente a diluição  $10^{-2}$ , crescimento cobrindo toda a superfície da placa (a), e a diluição  $10^{-4}$  onde a presença de colônias espalhadas e delimitadas (b).

As microscopias dos tubos positivos de desnitrificantes apresentaram predominância de bacilos gram positivos, confirmando as espécies que apareceram nas placas de bactérias heterotróficas. As bactérias nitrificantes (oxidadoras de amônia e nitrito) mostraram-se gram negativas com morfologia variando em bacilos e cocos, com predominância das primeiras.

A Figura 06 apresenta as principais morfologias observadas nos tubos positivos dos ensaios de NMP.

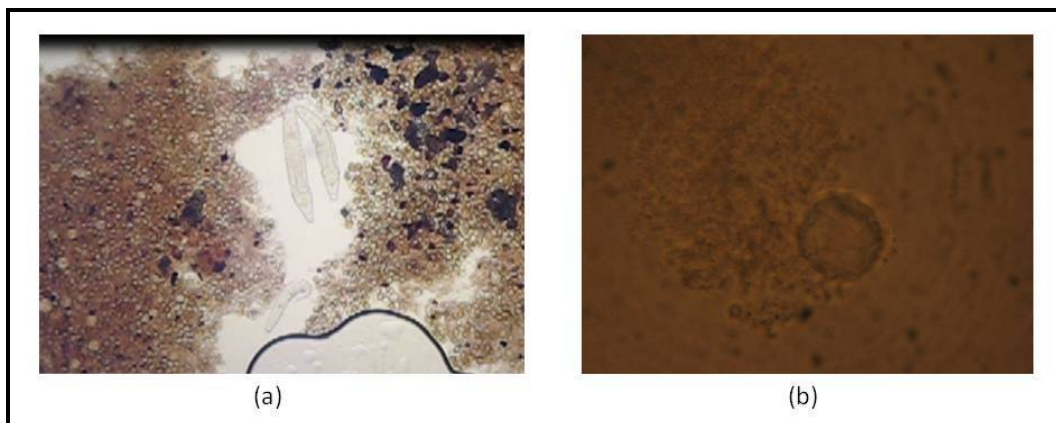


**Figura 06:** Morfologias observadas com coloração de Gram no aumento de 1000x. Em (a) observa-se bacilos gram negativos, e em (b) bacilos gram positivos.

Pelas características coloniais e pelos resultados da coloração de Gram, supõe-se que os gêneros que aparecem nas placas sejam de *Bacillus* ou *Corynebacterium*, gêneros de microrganismos considerados desnitrificantes (GUSMÃO, 2005).

A microscopia a fresco realizada com a primeira amostra coletada revelou um número considerável de indivíduos do grupo dos rotíferos (Figura 07 a). Esses, são eficientes no consumo de bactérias dispersas e partículas de matéria orgânica, dessa maneira, são encontrados mais facilmente ao redor dos flocos de matéria orgânica. Ainda na primeira amostra foram encontradas carapaças de amebas (tecamebas) como pode verificar na Figura 07 b, que são típicas do início de atividades dos reatores. A presença deste grupo de microrganismos revela um lodo com boas características.





**Figura 07: Microrganismos encontrados na primeira amostra coletada (a) Rotíferos, (b) Tecameba.**

A análise a fresco da segunda coleta apresentou menor diversidade microbiológica. Foi encontrado menor número de rotíferos e nenhuma tecameba. A terceira amostra coletada não apresentou formação de flocos, rotíferos ou tecameba.

## CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

Durante o acompanhamento do reator, notou-se que a biota do lixiviado proveniente de aterro sanitário variou ao longo do período de monitoramento, permitindo concluir que ecossistema envolvido no processo de remoção de nitrogênio depende intimamente das características do efluente e da forma de operação do reator e que as condições operacionais do reator na segunda coleta foram favoráveis ao processo via curta.

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná e a Fundação Araucária por fornecerem as bolsas de iniciação científica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRELPE. Panorama dos Resíduos sólidos no Brasil – 2010. Disponível em: < <http://www.abrelpe.org.br/downloads/Panorama2010.pdf> > Acesso: 13/05/2011.
2. ANNACHHATRE, A.P; SINHA, B. Partial Nitrification – operational parameters and microorganisms involved. Rev Environ Sci Biotechnol 6:285-313. Thailand, 2006.
3. APHA, AWWA, WEF . Standard methods for the examination of water and wastewater. 21 edition, American Public Health Association, Washington, D.C. 2005.
4. GUSMÃO, V. R. Caracterização microbiológica de cultura desnitrificante de reator anaeróbio horizontal de leito fixo utilizado na remoção de BTEX. São Carlos, 2005 197p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
5. MENDONÇA, L.C. Microbiologia e cinética de sistemas de lodos ativados como pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio de leito expandido. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Carlos. 2002. p.184.
6. OLIVEIRA, Selene; SILVA, Celso Luiz. Avaliação de Parâmetros Indicadores de Poluição por Efluente Líquido de um Aterro Sanitário. Engenharia Sanitária e Ambiental, V.9 – N°3, p. 240-249, 2004.
7. SOUTO, Gabriel D'Arrigo de Brito. Lixiviado de aterros sanitários brasileiros – estudos da remoção do nitrogênio amoniacal por processo de arraste com ar (“stripping”). Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos. 2009.