

## Área: Tecnologia de Alimentos

# AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA CIANOBACTÉRIA *APHANOTHECE MICROSCOPICA NÄGALI* DESENVOLVIDA NO EFLUENTE DE LATICÍNIO (INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE FÓSFORO E TEMPERATURA)

Washington Henrique Vilas Boas<sup>1</sup>; Paola Lasta<sup>1</sup>; Juliana Guerra Vieira<sup>2</sup>; Mariana Manzoni Maroneze<sup>1</sup>; Leila Queiroz Zepka<sup>1</sup>; Maria Isabel Queiroz<sup>2</sup>; Eduardo Jacob-Lopes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM),  
Santa Maria, RS, Brasil

<sup>2</sup>Escola de Química e Alimentos Universidade Federal de Rio Grande (FURG),  
Rio Grande, RS, Brasil

e-mail: jacoblopes@pq.cnpq.br

**RESUMO** – O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da concentração inicial de fósforo e temperatura no crescimento da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nægeli* desenvolvida no efluente de laticínio. Os cultivos foram conduzidos heterotroficamente utilizando o efluente de laticínios como meio de cultura em biorreatores, empregando temperaturas de cultivo de 20 e 30°C e concentrações de fósforo de 2,5 e 5,5 mg.L<sup>-1</sup>. Os resultados indicaram um melhor desempenho dos cultivos em temperatura de 20°C, principalmente em termos de produtividade celular, onde se obteve um valor de 68,0 mg.L<sup>-1</sup> nos cultivos com concentração inicial de fósforo de 5,5 mg.L<sup>-1</sup>. Com relação a conversão de substrato em células, os cultivos que apresentaram melhores valor foram a 20°C e concentração inicial de fósforo de 2,5 mg.L<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** fósforo; microalgas / cianobactéria; temperatura.

## 1 INTRODUÇÃO

O cultivo de microalgas vem sendo utilizado de formas extremamente versáteis, como para produção de alimentos, fertilizantes, química fina e já há algumas décadas como importante avanço no que se refere ao tratamento de águas residuária. O tratamento de efluentes a partir de microalgas caracteriza-se por trazer consigo, inúmeras vantagens, fazendo-se salientar o fato de não gerar poluição adicional, quando a biomassa é, bem como a possibilidade de utilização desta biomassa gerada a partir

dos nutrientes oriundos do efluente, para diferentes fins biotecnológicos, associada a características de algumas linhagens desenvolverem-se heterotroficamente, na ausência de luz.

O termo “microalga” refere-se a microrganismos de dois grupos: procariontes e eucariontes. As microalgas procariontes são conhecidas como cianobactérias (TORTORA; FUNKE; CASE, 2000; BARSANTI et al., 2008). Particularmente, as cianobactérias são mais potenciais que as microalgas eucarióticas para uso em bioprocessos, uma vez que esses microrganismos são robustos, têm necessidades nutricionais simples e podem usar até três vias metabólicas para obter energia, ou seja, fotossíntese, respiração e fixação de nitrogênio (FAY, 1983; QUEIROZ ET AL., 2011). Além disso, apresentam capacidade de tolerar altas temperaturas, radiação UV, água e concentrações salinas, o que contribui para o seu sucesso em ambientes adversos.

A abordagem do crescimento heterotrófico traz como principal vantagem à relação custo benefício, a relativa simplicidade de operação e manutenção diária, assim como a possibilidade de obter alta densidade celular possibilitando sua aplicação em escala industrial. Dentre os nutrientes contemplados pelos efluentes agroindustriais, o fósforo apesar de possuir elevado potencial poluidor está entre os elementos químicos listados como essenciais para o crescimento celular, cujos requisitos variam consideravelmente, entre as espécies de microalgas. Assim, o fósforo é um elemento de elevada demanda biológica o que o torna limitante na natureza. Por outro lado, as microalgas que exigem baixa demanda de fósforo, são as preferidas para os processos de biorrefinarias, uma vez que baixa exigência deste elemento para o crescimento microalgal pode refletir em redução de custo para o cultivo em massa. Além dos aspectos de contenção ambiental, é estrategicamente desejável, que os processos de tratamento permitam a recuperação e o reuso deste elemento de considerável demanda biológica. Neste sentido, sistemas de tratamento de efluentes, focado no desenvolvimento sustentável, têm sido desenvolvidos extensivamente, visando a reciclagem e valoração dos compostos poluentes onde estão inseridos os sistemas de tratamento com microalgas. A indústria de laticínio gera de 10 a 11 L de efluente por litro de leite processado.

Os efluentes das indústrias de laticínios diferem largamente tanto em quantidade como em qualidade dependendo dos tipos de produtos processados, os quais irão apresentar características muito distintas destes produtos, são manufacturados separadamente fazendo com que a carga poluente apresente mudanças ao longo do período de produção. Os processos de tratamento de águas residuárias, que utilizam microalgas e cianobactérias em condições heterotróficas têm sido considerados alternativas potenciais para eliminação de matéria orgânica nitrogênio e fósforo de efluentes industriais

Em face disto, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência da concentração inicial de fósforo e temperatura no crescimento da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nägeli* desenvolvida no efluente de laticínio.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Microrganismo e condições de crescimento

Uma monocultura de *Aphanothece microscopica* Nägeli (*RS-Man-92*), originalmente isolada da Lagoa dos Patos, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil (32°01'S-52°05'W) foi utilizada. As culturas foram propagadas e mantidas em meio sintético BG11 (RIPKA et al., 1979). Um reator de boro silicato tipo coluna de bolhas de 4 mm de espessura, diâmetro interno de 10 cm, altura de 100 cm e 4,5 L de volume de trabalho foi utilizado. O sistema de dispersão de gases do reator consistiu de um difusor de ar de 1,5 cm localizado no centro da base da coluna. As condições de manutenção foram 25°C, intensidade luminosa de 15  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 12 horas.

## 2.2 Água residuária

O efluente do processamento de laticínio foi coletado no tanque de equalização do sistema de tratamento de uma indústria localizada na cidade de Pelotas, RS. As amostras foram coletadas por um período de 36 meses e caracterizadas quanto ao pH, demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total (N-NTK), fósforo total (PT) e fósforo reativo dissolvido (PRD), segundo metodologia proposta por APHA, (2005).

## 2.3 Reator heterotrófico

O equipamento experimental utilizado foi constituído de um reator de coluna de bolhas de PVC, de iguais dimensões do reator autotrófico utilizado para manutenção da cultura de *Aphanothece microscopica* Nägeli. A ausência de luminosidade e o controle de temperatura foram obtidos pela exposição do reator em uma incubadora da marca TECNAL modelo TE-401.

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## Crescimento celular

O crescimento celular de cianobactérias é altamente dependente das condições ambientais, como presença ou ausência de luz, temperatura, pH e nutrientes, entre outros fatores. Dentre todos fatores a temperatura tem sido considerada, como o fator que exerce maior efeito no crescimento e atividades metabólicas microalgais (CONVERTI et al., 2009). Neste sentido, a Tabela I apresenta os parâmetros cinéticos dos cultivos de *Aphanothece microscopica* Nägeli.

Os resultados obtidos demonstraram que as maiores concentrações em biomassa são registradas quando o microrganismo se desenvolve nas maiores concentrações de fósforo de 5,5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , com o maior valor em concentração de biomassa (1072  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) a 30°C, concentração está significativamente diferente ( $p \leq 0,05$ ), quando comparada aos máximos de biomassa gerados nas demais condições. No entanto, quando o microrganismo é desenvolvido a 20°C, menor tempo de geração (4,2 h), maior conversão de substrato em biomassa ( $Y_{\text{PO}_4^{-3}} = 124,8 \text{ mg PO}_4^{-3}/\text{mg}$  de biomassa;  $Y_{\text{N-N-NTK}} = 15,2 \text{ mg N-N-NTK}/\text{mg}$  de

biomassa e  $Y_{DQO} = 0,35$  mg DQO/mg de biomassa) e maior produtividade ( $68,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ ) é evidenciado na Tabela I.

**Tabela I.** Avaliação da cinética de crescimento.

Parâmetro	20°C		30°C	
	P-PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )			
	2,5	5,5	2,5	5,5
X <sub>o</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	173±38	201±2	152±23	192±10
X <sub>máx</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	383±50	749±17	362±3	1072±13
TDH (h)	12	8	16	16
μ <sub>máx</sub> (h <sup>-1</sup> )	0,0670±0,0078	0,1644±0,0038	0,0539±0,0114	0,1076±0,0030
tg (h)	10,4±1,2	4,2±0,1	13,1±2,5	6,4±0,2
Y <sub>X/S</sub> (mg <sub>biomassa</sub> /mg <sub>PO<sub>4</sub><sup>-3</sup></sub> )	124,8±11,5	107,7±15,0	108,0±2,4	55,0±5,4
Y <sub>X/S</sub> (mg <sub>biomassa</sub> /mg <sub>DQO</sub> )	0,35±0,06	0,32±0,04	0,22±0,02	0,17±0,02
Y <sub>X/S</sub> (mg <sub>biomassa</sub> /mg <sub>N-NTK</sub> )	15,2±3,6	12,1±1,0	7,0±2,6	5,4±0,5
P <sub>X</sub> (mg.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	18,0±1	68,0±2	13,0±2	55,0±1

X<sub>o</sub>: concentração celular inicial (mg.L<sup>-1</sup>); X<sub>máx</sub>: concentração celular máxima (mg.L<sup>-1</sup>); TDH: tempo de detenção hidráulica (h); μ<sub>máx</sub>: velocidade específica de crescimento máxima (h<sup>-1</sup>); tg: tempo de geração (h); Y<sub>X/S</sub> (mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>PO<sub>4</sub><sup>-3</sup></sub>): conversão de fósforo em célula; Y<sub>X/S</sub> (mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>N-NTK</sub>): conversão de nitrogênio em célula; Y<sub>X/S</sub> (mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>DQO</sub>): conversão de matéria orgânica (DQO) em célula; P<sub>X</sub>: produtividade em biomassa (mg.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>). Dados obtidos a partir de 9 repetições.

Quando se avaliam os fatores de conversão de fosfato em células, verifica-se que os valores obtidos de 55 a 124 mg de biomassa/mgPO<sub>4</sub><sup>-3</sup>, são notadamente superiores aos encontrados para os fatores de conversão de N-NTK e DQO, apesar das baixas concentrações iniciais de P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> presentes no efluente (2,5 e 5,5 mg.L<sup>-1</sup>) e que o fator de conversão de substrato em células varia com a temperatura, sendo registrados os maiores valores a 20°C. Este comportamento, pode ser verificado na Tabela I em que são registrados, os maiores valores de fator de conversão de P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> em células (100,7 e 124,8 mg de biomassa/mg de P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>), para o cultivo desenvolvido a 20°C.

## 4 CONCLUSÃO

O cultivo heterotrófico da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nægeli* empregando efluente de processamento de laticínio como fonte de carbono orgânico e nutrientes apresentou melhor produtividade celular sob temperatura de 20°C e concentração de fósforo de 5,5 mg.L<sup>-1</sup>. Em termos de conversão de substrato em células, os cultivos desenvolvidos sob concentração inicial de fósforo de 2,7 mg.L<sup>-1</sup> e temperatura de 20°C apresentaram os maiores valores (Y<sub>X/S</sub>= 124,8 mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>PO<sub>4</sub><sup>-3</sup></sub>, Y<sub>X/S</sub>=15,2 mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>N-NTK</sub>, Y<sub>X/S</sub>= 0,35 mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>DQO</sub>).

## 5 REFERÊNCIAS

- APHA-American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Edition, 2005.
- CONVERTI, A.; SCAPAZZONI, S.; LODI, A.; CARVALHO, J. C. M. **Ammonium and urea removal by *Spirulina platensis***. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 33, n. 1, p. 8-16, 2009.
- HORNES, M.; SILVA, A.G; MITTERER, M.L; QUEIROZ, M.I. **Influência dos compostos nitrogenados na concentração de proteína da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, p. 1-371, 2010.
- POWELL, N.; SHILTON A.; CHISTI Y.; PRATT, S. **Towards a luxury uptake process via microalgae – Defining the polyphosphate dynamics**. *Water Research*. v. 43, p. 4207 – 4213, 2009.
- QUEIROZ, M. I.; BASTOS, R. G.; BENERI, R. L.; ALMEIDA, R. G. **Evaluación del crecimiento de la *Aphanothece microscopica* Nägeli em las aguas residuales de la parbolización del arroz**. *Revista Información Tecnológica*, v. 13, p. 61-66, 2002.
- QUEIROZ, M. I.; HORNES, M. O.; MANETTI, A. G. S.; ZEPKA, L. Q.; JACOBLOPES, E. **Fish processing wastewater as a platform of the microalgal biorefineries**. *Biosystems engineering*, v. 115, p. 195-202, 2013.
- QUEIROZ, M. I.; HORNES, M. O.; SILVA-MANETTI, A. G.; JACOB-LOPES, E. **Single-cell oil production by cyanobacterium *Aphanothece microscopica* Nägeli cultivated heterotrophically in fish processing wastewater**. *Applied Energy*, v. 88, p.3438–3443, 2011.
- RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J.B.; HERDMAN, M.; STANIER, R.Y. **Generic assignments strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria**. *Journal of General Microbiology*. v.111, p.01-61, 1979.
- SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. **Commercial Applications of Microalgae**. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 101, p. 8796, 2006.
- XIN, L.; HONG-YINGA, H.; KEB, G. JIA, Y. **Growth and nutrient removal properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. LX1 under different kinds of nitrogen sources**. *Ecological Engineering*. v.36 p.379-381, 2010.
- ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; GOLDBECK, R.; QUEIROZ, M. I. **Production and biochemical profile of the microalgae *Aphanothece microscopica* Nägeli submitted to different drying conditions**. *Chemical Engineering and Processing*, v. 47, p. 1305-1310, 2008.
- ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; GOLDBECK, R.; SOUSA-SOARES, L. A.; QUEIROZ, M. I. **Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Aphanothece microscopica* Nägeli**. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 18, p. 7118-7122, 2010.
- ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; QUEIROZ, M. I. **Efecto del procesamiento térmico en el perfil de ácidos grasos de la microalga *Aphanothece microscopica* Nägeli**. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, v. 5, p. 368-371, 2007.
- FAY, P. **The blue-greens (Cyanophyta-cyanobacteria)**. Edward Arnold Publishers, London, 1983.

QUEIROZ, M.I.; HORNES, M.O.; SILVA-MANETTI, A.G.; JACOB-LOPES, E. **Single-cell oil production by cyanobacterium *Aphanothece microscopica* Nägeli cultivated heterotrophically in fish processing wastewater**, *Appl. Energy* 88, p. 3438-3443, 2011.

HERRERO, Antonia; MURO-PASTOR, Alicia. M.; FLORES, Enrique. **Nitrogen control in cyanobacteria**, *J. Bact.*, p. 411-425, 2001.

EVANGELISTA, Valtere; BARSANTI, Laura; FRASSANITO, Anna. M.; PASSARELLI, Vincenzo; GUALTIERI, Paolo. **Algal toxins: nature, occurrence, effect and detection**. Springer/ NATO Public Diplomacy Division, p. 1-15, 2008.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 6<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, p. 827, 2000.