

Área: Tecnologia de Alimentos

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE DIFERENTES PROPORÇÕES DE CARBONO E NITROGÊNIO NA BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTE CERVEJEIRO NO CULTIVO HETEROTRÓFICO DA *PHORMIDIUM AUTUMNALE*

Rafaela Basso Sartori, Patrícia Arrojo da Silva, Aline Meireles dos Santos, Alberto Meireles dos Santos, Leila Queiroz Zepka, Eduardo Jacob Lopes*

Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
**E-mail: jacoblopes@pq.cnpq.br*

RESUMO – O objetivo do estudo foi avaliar o potencial de conversão simultânea de matéria orgânica, nitrogênio total e fósforo total, em uma única etapa a partir do efluente cervejeiro. O trabalho teve como foco o cultivo heterotrófico da *Phormidium autumnale* em diferentes razões C/N. Os experimentos foram realizados em um reator de coluna de bolhas, operando à temperatura constante de 30 °C, pH de 7,6, em diferentes razões C/N (20 e 80), 100 mg/L⁻¹ de inóculo, aeração constante de 1 VVM (volume de ar por volume de cultura por minuto) e ausência de luz. Os resultados indicam que a razão C/N de 80 resultou no melhor desempenho do sistema, uma vez que atingiu produtividade celular média de 25,6 mg/L.h com paralela eficiência na remoção de carbono orgânico total (75%) e fósforo total (83%), cumprindo com os padrões de emissão previstos pela legislação.

Palavras-chave: Cianobactéria, efluente agroindustrial, razão C/N.

1 INTRODUÇÃO

A indústria cervejeira ocupa uma posição econômica estratégica e o seu processo de fabricação produz grandes quantidades de águas residuais e resíduos sólidos. Estima-se que, para 1 L de cerveja, são gerados cerca de 3-10 L de efluente residual (SIMATE et al., 2011). Estes resíduos contêm nutrientes biodegradáveis e orgânicos, tais como açúcares, amido solúvel, etanol, ácidos graxos voláteis e concentrações muito baixas de metais pesados (DRIESSEN & VEREIJKEN, 2003). Atualmente, a gestão da água, tratamento de resíduos e eliminação tornaram-se fatores de custo relevantes e aspectos críticos na operação deste tipo de indústria. Todas as plantas visam minimizar os custos de descarte de resíduos, enquanto a legislação sobre isso torna-se mais rígida (FERREIRA et al., 2017).

O uso de cianobactérias no tratamento de águas residuárias é uma alternativa técnico-econômica potencial em relação aos sistemas convencionais de tratamento de efluentes. Esses processos são baseados nas rotas metabólicas respiratórias, que algumas espécies de cianobactérias apresentam, no qual fontes exógenas de carbono

orgânico e nutrientes inorgânicos são bioconvertidos em produtos do metabolismo heterotrófico, particularmente em uma biomassa com elevados teores de proteínas, carboidratos, lipídeos e pigmentos (ZEPKA et al., 2010; SANTOS et al., 2016).

Neste contexto, o tratamento baseado em microalgas apresenta-se bastante promissor devido ao crescimento da biomassa estar paralelamente ligado a remoção biológica de contaminantes em águas residuais de maneira menos onerosa e ecologicamente mais segura, com os benefícios adicionais de recuperação e reciclagem de recursos (CHRISTENSON & SIMS, 2011).

Em face disto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um bioprocesso de conversão simultânea de matéria orgânica, nitrogênio total e fósforo total, em uma única etapa a partir do efluente cervejeiro, com foco no cultivo heterotrófico da cianobactéria *Phormidium autumnale* em diferentes razões C/N.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Microorganismo e meio de cultura

A cianobactéria utilizada foi a *Phormidium autumnale* isolada do deserto Cuatro Ciénegas no México (26°59'N 102°03'W). Após purificação, as culturas estoque foram mantidas em tubos de ensaio contendo meio sintético BG11 (RIPPKA et al., 1979) solidificado com agar-agar (20 g.L⁻¹). As condições de manutenção foram 25 °C e intensidade luminosa constante de 15 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$.

2.2 Água residuária

O efluente utilizado como meio de cultura foi obtido de uma indústria cervejeira localizada em Santa Maria, RS, Brasil (29.6873°S 53.8154°W). O efluente foi coletado mensalmente a partir do ponto de descarga, por um período de 12 meses, e analisado quanto ao pH, demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total (N-TKN), fósforo total (P-PO₄⁻³), sólidos totais (ST), sólidos suspensos (SS) e sólidos voláteis (SV), seguindo Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005). As razões carbono/nitrogênio (C/N) foram calculadas através de DQO e N-NTK e ajustadas com NaNO₃ quando necessário para obter razões C/N de 20 e 80.

2.3 Cultivo em Biorreator

Os cultivos foram realizados em reator de coluna de bolhas construído em vidro borossilicato com um diâmetro externo de 12,5 cm e uma altura de 16 cm, resultando numa relação altura/diâmetro (L/D) igual a 1,28. O volume total do frasco, bem como o volume nominal de trabalho, foi de 2,0 L. O sistema de dispersão de ar consistiu em um difusor de 2,5 cm de diâmetro, localizado no interior do reator. A vazão de ar foi controlada por rotâmetros (precisão $\pm 5\%$), a entrada de oxigênio e a saída dos gases foram filtradas através de unidades filtrantes Millex-FG® de 0,22 μm de diâmetro. As condições de cultivos foram: concentração celular inicial de 100 mg/L

¹, aeração constante de 1 VVM (volume de ar por volume de meio por minuto), pH ajustado a 7,6, diferentes razões C/N (20 e 80), temperatura de 30 °C e ausência de luminosidade.

2.4 Análise dos dados cinéticos

Os dados de concentração de biomassa foram utilizados na obtenção da velocidade máxima específica de crescimento ($\ln(X/X_0)=\mu_{\max}\cdot t$), em que X é a concentração celular final (mg/L^{-1}), X_0 é a concentração celular inicial (mg/L^{-1}), μ_{\max} é a velocidade máxima específica de crescimento (h^{-1}) e t é o tempo de residência (h); no cálculo da produtividade de biomassa ($P_x=\mu\cdot X$), em que μ é a velocidade instantânea de crescimento (h^{-1}) e X a concentração celular (mg/L^{-1}). A concentração de carbono orgânico foi utilizada para calcular a taxa de consumo do substrato ($r_s=dS/dt$), em que S é a concentração de carbono orgânico (mg/L^{-1}) e t é o tempo de residência (h); a eficiência na conversão do carbono orgânico ($EC=S_0-S/S_0$), em que S_0 é a concentração inicial de carbono orgânico (mg/L^{-1}) e S é a concentração final de carbono orgânico (mg/L^{-1}) e o coeficiente de conversão do substrato em células ($Y_{X/S}=dX/dS$). Os experimentos foram realizados em duplicata e os dados cinéticos referem-se à média de quatro repetições.

2.5 Amostragem e métodos analíticos

As amostragens foram realizadas de forma asséptica a cada 24 horas durante a fase de crescimento do microrganismo. A dinâmica do pH para os cultivos em biorreator foi determinada por potenciômetro e a concentração celular através de gravimetria por meio da filtração de um volume conhecido em filtro 0,45 μm de diâmetro. A concentração de carbono orgânico, expressa em termos de demanda química de oxigênio (DQO) foi determinada por método colorimétrico do refluxo fechado segundo metodologia proposta por APHA (2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tipo de tratamento de águas residuais requerido depende principalmente dos requisitos de efluentes das águas residuais. Os poluentes descarregados das águas residuais industriais afetam negativamente todos os aspectos do meio ambiente, como água, ar e terra. O tratamento de efluentes industriais geralmente é difícil porque as águas residuais contêm vários poluentes, altos teor de matéria orgânica e componentes pouco biodegradáveis (UDAIYAPPAN et al., 2017). Esses efluentes podem apresentar grande variabilidade no que se refere à composição química, devido aos diferentes tipos de processamento e matérias-primas empregados. Neste sentido, a Tabela 1 descreve a caracterização do efluente oriundo da indústria cervejeira.

Tabela 1. Valores médios da caracterização do efluente cervejeiro

Parâmetro	Valor médio
DQO (mg/L)	1430,66
N-NTK (mg/L)	17,38
PO ₄ ⁻³ (mg/L)	9,98
SS (mg/L)	270
ST (mg/L)	1,24
SF (mg/L)	0,18
SV (mg/L)	1,06
Razão C/N	80

DQO: demanda química de oxigênio, N-NTK: nitrogênio total, PO₄⁻³: fósforo total, SS: sólidos em suspensão, ST: sólidos totais, SF: sólidos fixos, SV: sólidos voláteis, C/N: razão carbono/nitrogênio

Com base nos resultados da Tabela 1, a taxa de sólidos em suspensão (270 mg/L) e a taxa de nitrogênio total (17,38 mg/L) da caracterização do efluente encontram-se dentro dos valores esperados para uma indústria cervejeira. Segundo Kochenborger (2012) e Von Sperling (2005) os valores para estes parâmetros devem estar compreendidos em uma faixa de 100 mg/L a 800 mg/L e 24,3 mg/L, respectivamente.

O metabolismo heterotrófico microalgal pode simultaneamente converter os principais poluentes (C, N e P) em águas residuais em um único passo além de representar um potencial considerável na redução de custos operacionais (SANTOS et al., 2017). Neste sentido, a Tabela 2 apresenta os parâmetros cinéticos de produção de biomassa e consumo de substrato obtido através da variação da razão C/N do efluente cervejeiro.

Tabela 2. Parâmetros cinéticos obtidos variando as proporções de carbono e nitrogênio no meio de cultivo da *Phormidium autumnale*

C/N	$\mu_{\text{máx}}$ (h ⁻¹)	TRH (h)	P _x (mg/L.h)	r _{sC} (mg/L.h)	ER _C (%)	ER _N (%)	ER _F (%)
20	0,0308	48	7,0	19	63	66	50
80	0,0389	96	25,9	16	75	38	83

C/N: razão carbono/nitrogênio, $\mu_{\text{máx}}$: velocidade de crescimento específico, TRH: tempo de residência hidráulica, P_x: produtividade celular, r_{sC}: taxa de consumo de carbono orgânico, ER_C: eficiência de remoção de carbono orgânico, ER_N: eficiência de remoção de nitrogênio, ER_F: eficiência de remoção de fósforo.

Observa-se, a partir da análise dos dados, uma variabilidade pronunciada no desempenho do processo em função da condição ambiental avaliada. Para razão C/N de 80 a produtividade celular atingiu uma concentração de 25,6 mg/L.h e remoção de carbono orgânico de 75%, apresentando-se assim como a melhor condição quando comparado aos resultados da razão C/N de 20, o qual apresentou valores de 7 mg/L.h e 63% de produtividade celular e remoção da matéria orgânica, respectivamente. Além disso, a razão C/N de 80 alcançou maior taxa de crescimento específico do inóculo (0,0389 h⁻¹) em um menor tempo de geração (17,8 h). Esses resultados justificam-se em função das elevadas concentrações de nitrogênio inorgânico fornecidas a razão C/N de 20 (900 mg/L), sem o fornecimento de uma fonte de carbono que apoie a assimilação deste nitrogênio e o subsequente crescimento celular, uma vez que estes estão interligados (FERNANDEZ e GALVAN, 2007).

A eficiência de remoção é considerada o principal indicador de desempenho de um biorreator de tratamento de efluentes. Sob o ponto de vista de atendimento a legislação vigente, a remoção da demanda química de oxigênio e fósforo na razão C/N de 80 estão de acordo com os limites referenciados pelo Conselho Estadual do

Meio Ambiente (RIO GRANDE DO SUL, 2006) que referencia concentrações finais de 400 mgO₂/L e porcentagens mínimas de redução de 75% para DQO e fósforo, respectivamente.

4 CONCLUSÃO

O processo de biorremediação do efluente cervejeiro a partir da *Phormidium autumnale* foi otimizado na razão C/N de 80, uma vez que apresentou elevada produtividade celular (25,9 mg/L.h) além de cumprir com os padrões de emissão estabelecidos na legislação. O cultivo de microalgas com base em águas residuais é uma plataforma ideal para alcançar simultaneamente a redução de resíduos e a reutilização da biomassa gerada em co-produtos de interesse comercial.

5 REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA; AMERICAN WATERWORKS ASSOCIATION - AWWA; WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION - WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Baltimore, Maryland: Prot City, 2005.
- CHRISTENSON, I.; SIMS, R. Production and Harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. **Biotechnol. Adv.**, v. 6, n. 29, p. 686-702, 2011.
- DRIESSEN, W., VEREIJKEN, T. Recent developments in biological treatment of brewery effluent. In: Proc. 9th Brewing Convention. Institute and Guild of Brew. The Netherlands, Africa, p. 165–166, 2013.
- FERREIRA, A.; MARQUES, P. A. S. S.; RIBEIRO, B.; FERREIRA, A. F.; DIAS, A. P.; PINHEIRO, H. M.; REIS, A.; GOUVEIA, L. *Scenedesmus obliquus* mediated brewery wastewater remediation and CO₂ biofixation for green energy purposes. **Journal of Cleaner Production**, v. 165, p. 1316-1327, 2017.
- KOCHENBORGER, G. Tratamento Físico-Químico para efluente de cervejaria. Universidade de Passo Fundo, 2012.
- RIO GRANDE DO SUL. Secretaria Estadual do Meio Ambiente. Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA). Resolução 128 de 24 de novembro de 2006. Dispõe sobre fixação de Padrões de Lançamento de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: SMA, 2006. Disponível em: <<http://www.sema.rs.gov.br>> Acessado em: 15 de março de 2018.
- RIPPKA, R. et al. Generic assignments strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 61, 1979.
- SANTOS, A. M.; SANTOS, A. M.; SEVERO, I. A.; QUEIROZ, M. I.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E. Nutrient Cycling in Wastewater Treatment Plants by Microalgae-Based Processes. In: Industrial Waste: Management, Assessment and Environmental Issues. **Nova Science Publishers**, Inc., Chapter 2 pp. 41-64, 2016.
- SANTOS, A. M.; ROSO, G. R.; MENEZES, C. R. D.; QUEIROZ, M. I.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E. The bioeconomy of microalgal heterotrophic bioreactors applied to agroindustrial wastewater treatment, **Desal. Water Treat.**, v. 64, p. 12–20, 2017.
- SIMATE, G. S.; CLUETT, J.; IYUKE, S. E.; MUSAPATIKA, E. T.; NDLOVU, S.; WALUBITA, L. F.; ALVAREZ, A. E. The treatment of brewery wastewater for reuse state of the art. **Desalination**, v. 2-3, n. 273, p. 235-247, 2011.
- UDAIYAPPAN, A. F. M.; HASANA, H. A.; TAKRIFFA, M. S.; ABDULLAHA, S. R. S. A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v. 20, p. 8-21, 2017.
- VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, v. 3, 2005.
- 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.