



## **Bioconversão do nitrogênio do efluente da parboilização do arroz por incorporação em biomassa da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli**

(doi:10.4136/ambi-agua.167)

**Reinaldo Gaspar Bastos<sup>1</sup>; Márcio Severo<sup>2</sup>; Giandra Volpato<sup>2</sup>; Eduardo Jacob-Lopes<sup>3</sup>; Leila Queiroz Zepka<sup>3</sup>; Maria Isabel Queiroz<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar  
E-mail: reinaldo@cca.ufscar.br

<sup>2</sup>Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, FURG

E-mail: marciogs@gmail.com; giandra@gmail.com; mariaisabel.queiroz@pesquisador.cnpq.br

<sup>3</sup>Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM  
E-mail: jacoblopes@pq.cnpq.br; zepkaleila@yahoo.com.br

### **RESUMO**

As cianobactérias são capazes de crescer em águas residuárias industriais como resultado de sua habilidade em utilizar fontes exógenas de carbono e nutrientes inorgânicos do efluente em metabolismo heterotrófico. Adicionalmente, a biomassa formada por meio da conversão dos poluentes tem potencial de uso como fonte de proteína unicelular. Nesse sentido, o trabalho teve por objetivos avaliar a bioconversão de nitrogênio do efluente da parboilização do arroz através de biorreatores heterotróficos com cianobactérias. Os resultados indicaram a potencialidade do sistema proposto para a conversão de nitrogênio do efluente, resultado de uma eficiência de remoção de 83%, associado a uma conversão de nitrogênio em proteína de 9,23% em 15h de tempo de residência hidráulica. Esses valores indicam a possibilidade de produzir 234 g<sub>proteína</sub>/m<sup>3</sup> efluente tratado por esse processo.

**Palavras-chave:** nitrogênio; proteína; cianobactéria; biorreator heterotrófico.

### **Bioconversion of nitrogen in the rice parboiling wastewater by incorporation in biomass of the cyanobacterium *Aphanothece microscopica* Nägeli**

### **ABSTRACT**

The cyanobacteria are able to effectively grow in wastewater due to their ability to utilize exogenic organic carbon sources and inorganic nutrients of the wastewater. Additionally, the biomass formed by the conversion of the pollutants have potential to be used as single-cell protein source. In this sense, the aim of this study was to evaluate the bioconversion of nitrogen of the parboiled rice wastewater by cyanobacteria in heterotrophic bioreactors. The results show the potential of the proposed system for the conversion of nitrogen from the wastewater, resulting in a removal efficiency of 83.0%, associated with a nitrogen to protein conversion of 9.2% at 15h of hydraulic retention time. These values indicate the possibility of producing 234 gprotein/m<sup>3</sup>wastewater treated by this process.

**Keywords:** nitrogen; single-cell protein; cyanobacteria; heterotrophic bioreactor.

## **1. INTRODUÇÃO**

A demanda por oxigênio associada à eutrofização dos corpos hídricos receptores, decorrente da poluição por compostos orgânicos e nutrientes inorgânicos indica a necessidade

do tratamento de águas residuárias industriais antes da emissão dos efluentes no ambiente (Muga e Mihelcic, 2008).

Os processos convencionais de remoção de nitrogênio de águas residuárias estão focados na volatilização dos compostos nitrogenados, na forma do gás nitrogênio. Essa estratégia, embora eficiente do ponto de vista de disposição de resíduos não permite o uso sustentável desses compostos, que servem como blocos construtores de inúmeras substâncias de valor comercial, como ácidos nucléicos, proteínas e pigmentos (Queiroz et al., 2007).

Nesse sentido, o uso de cianobactérias no tratamento de águas residuárias é uma alternativa técnico-econômica potencial em relação aos sistemas convencionais de tratamento secundário e terciário 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).

Em virtude das características dessa biomassa, processos baseados em cianobactérias têm sido considerados nos últimos anos potenciais tecnologias para converter resíduos industriais em insumos proteicos usados na formulação de rações animais e matérias graxas para a indústria de biodiesel (Jacob-Lopes et al., 2010). Em termos de biorreatores, as principais configurações empregadas em sistemas de cultivo heterotrófico incluem os tanques agitados mecanicamente, *air-lifts* e os reatores de coluna de bolhas (Perez-Garcia et al., 2010).

Os resíduos agroindustriais apresentam características adequadas para suportar esses cultivos, além da elevada concentração de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo, que resultam geralmente em razões C/N e N/P adequadas, apresentam qualitativamente compostos de fácil assimilação, e na maioria dos casos ausência de compostos tóxicos/inibidores de crescimento. Especificamente em relação aos compostos nitrogenados, as cianobactérias são capazes de assimilar formas nitrogenadas orgânicas e inorgânicas, como aminoácidos e uréia (Flores e Herrero, 1994).

A parboilização do arroz é um dos principais processos de beneficiamento do cereal. Esse processo envolve significativo volume de água, resultando em um elevado volume de efluente, em média, equivalente a 4 m<sup>3</sup>/ton de arroz processado. Segundo Queiroz e Koetz (1997), em valores médios amostrados por um período de 13 meses, essa água residuária apresenta, aproximadamente, 80 mg/L de nitrogênio total. Desse valor, 78% é representado por nitrogênio orgânico, seguido por, aproximadamente, 20% por nitrogênio amoniacal. Nitratos e nitritos somados representam valores inferiores a 3%. Em face disso, o trabalho teve por objetivos avaliar a bioconversão de nitrogênio do efluente da parboilização do arroz por *Aphanothece microscopica Nægeli*.

## 2. MATERIAL & MÉTODOS

### 2.1. Microrganismo e condições de cultivo

A espécie utilizada foi a *Aphanothece microscopica Nægeli* (RSMAN92), originalmente isolada da Lagoa dos Patos, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil (32°01'S - 52°05'W). As culturas foram propagadas e mantidas em meio sintético BGN (Rippka et al., 1979). As condições de manutenção usadas foram 25°C, intensidade luminosa de 15 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 12h.

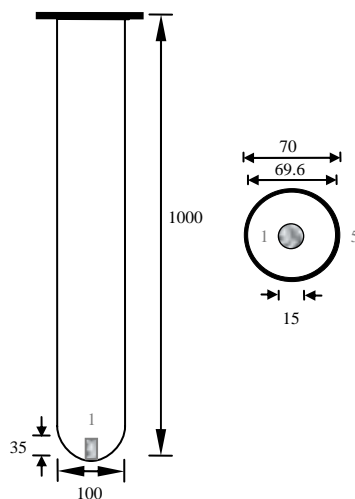
### 2.2. Água residuária

O efluente foi coletado diretamente dos tanques de maceração do parboilização do arroz, em uma indústria localizada na cidade de Pelotas, RS. As amostras foram coletadas por um

período de 12 meses, e caracterizadas quando ao pH, DQO, NTK e  $PO_4^{3-}$ , segundo metodologia proposta por APHA (2005).

### 2.3. Biorreator

O aparato experimental (Figura 1) foi constituído de um biorreator do tipo coluna de bolhas, construído em PVC de 4 mm de espessura, diâmetro interno de 10 cm, altura de 100 cm e 4,5 L de volume de trabalho. O sistema de dispersão de gases do reator consistiu em um difusor de ar de 1,5 cm localizado no centro da base da coluna.



**Figura 1.** Diagrama esquemático do biorreator heterotrófico.

### 2.4. Obtenção dos dados cinéticos

Os experimentos foram conduzidos em um biorreator operando em batelada, alimentados com 4,5 L de efluente, pH ajustado a 7,6, 100 mg/L de inóculo, temperatura de 25°C, ausência de luminosidade, e aeração contínua de 1VVM (volume de ar por volume de efluente por minuto).

### 2.5. Métodos analíticos

A concentração celular, de nitrogênio total e proteína da biomassa foi monitorada em intervalos regulares de tempo, durante as fases de crescimento do microrganismo. A concentração celular foi determinada gravimetricamente por meio da filtração de um volume conhecido de efluente em filtro de 0,45  $\mu$ m de diâmetro. A concentração de nitrogênio do efluente e da biomassa foram determinados pelo método de Kjeldahl, sendo o fator de conversão de 6,25 usado para estimar o teor de proteína da biomassa (AOAC, 2000). Os testes foram conduzidos em duplicata e os dados cinéticos referem-se à média de quatro repetições.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efluentes líquidos são gerados a partir do uso da água nos processos industriais. O processamento de alimentos requer grandes volumes de água de qualidade variável. De qualquer forma, durante o processamento a água carrega consigo diversos componentes, alterando suas características físico-químicas. Os efluentes das indústrias de alimentos apresentam grande variabilidade no que se refere à composição química, devido às diferentes matérias-primas e tipos de processamento empregados. São caracterizados por alto conteúdo de compostos carbonados, nitrogenados e fosforados (Wang et al., 2005). Nesse sentido, a composição físico-química do efluente da parboilização do arroz é apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1.** Caracterização da água residuária.

Efluente da parboilização do arroz	
Parâmetro	Valor
pH	4,64 ± 0,4
DQO (mg/L)	4206,8 ± 1327,6
NTK (mg/L)	78,1 ± 22,5
P-PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (mg/L)	53,9 ± 29,7
C/N	53,86
N/P	1,45

A variabilidade dos constituintes considerados é verificada em função basicamente dos aspectos sazonais, inerentes a manufatura do arroz parboilizado. Independentemente desse fato, elevadas concentrações de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo foram constatadas, resultando em razões C/N e N/P com potencial para suportar cultivos de cianobactérias. Os baixos valores do pH é outra característica comum desse tipo de resíduo, ocasionando a necessidade do ajuste a valores ideais ao tratamento biológico.

A Tabela 2 apresenta os parâmetros cinéticos de crescimento e os fatores de conversão de substrato em biomassa para os diferentes meios de cultivo considerados. O cultivo da *Aphanothece microscopica Nægeli* na água residuária do processamento de arroz apresentou densidade celular máxima de 520 mg/L, velocidade máxima específica de crescimento de 0,11 h<sup>-1</sup>, tempo de geração de 6,3 h e tempo de residência para atingir a máxima concentração celular de 15 h. Esses valores são elevados se comparados ao inventário realizado por Pittman et al. (2011) no cultivo de diferentes espécies de microalgas, em variados efluentes industriais, no qual valores máximos de produtividade em biomassa de 3,4 mg/L.h (*Chlorella* sp. em efluente de laticínios) foram registrados, significativamente inferior aos 36 mg/L.h verificados neste trabalho.

Os valores obtidos para os coeficientes de conversão de matéria orgânica em biomassa, (0,17 mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>DQO</sub>) sugere que ocorre um elevado consumo de matéria orgânica com baixa conversão em biomassa. Elevadas reduções de matéria orgânica por cianobactérias com baixa conversão em biomassa a partir de moléculas simples como acetato, glicose e ácidos orgânicos em metabolismo heterotrófico indicam a existência de rotas metabólicas capazes de assegurar crescimento celular na ausência de luminosidade (Tam e Wong, 2000). Por outro lado, o coeficiente de conversão de nitrogênio em biomassa (11,4 mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>NTK</sub>) demonstra que elevadas conversões desse nutriente ocorrem na forma de biomassa.

Comparativamente com os sistemas convencionais de nitrificação-desnitrificação, no qual valores inferiores normalmente a 1 mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>NTK</sub> são registrados, independentemente das características particulares do processo, tanto nas etapas autotróficas quanto heterotróficas. Esses valores são substancialmente inferiores aos obtidos no processo com cianobactérias, no qual a conversão de nitrogênio em biomassa ocorre em algumas ordens de magnitude superior ao encontrado para os sistemas convencionais. Jacob-Lopes et al. (2009) reporta fatores de conversão de nitrogênio em biomassa para as águas residuárias do processamento de pescado e processamento de laticínios de 5,8 e 32,4 mg<sub>biomassa</sub>/mg<sub>NTK</sub>, respectivamente. Essa variabilidade é decorrente das formas nitrogenadas presente nos efluentes, que irão resultar em uma maior capacidade de assimilação via metabolismo heterotrófico.

Em termos de eficiência de remoção, registraram-se valores de 80 e 85% para remoção de nitrogênio total e demanda química de oxigênio, respectivamente. Isoldi et al. (2005) reporta eficiências de remoção de 84 e 83% para DQO e NTK, respectivamente do efluente da parboilização do arroz em um sistema UASB-reator aeróbio, bastante similares aos registrados neste estudo. No entanto devemos considerar que biorreatores heterotróficos com

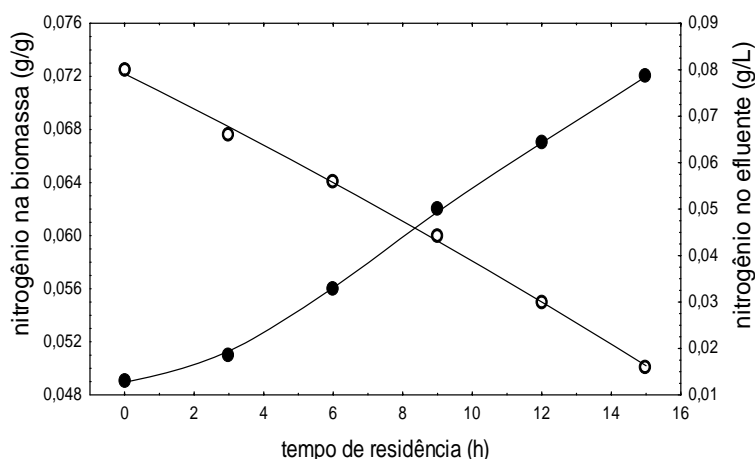
cianobactérias são capazes de remover simultaneamente carbono e nitrogênio em uma única etapa, reduzindo assim custos capitas e operacionais vinculados ao processo de tratamento. Considerando a legislação vigente, os valores finais obtidos e as eficiências de remoção enquadram-se no padrão proposto pelo Consema (Rio Grande do Sul, 2006) no estado do Rio Grande do Sul.

**Tabela 2.** Parâmetros cinéticos do processo.

Efluente da parboilização do arroz	
Parâmetro	Valor
$X_{m\acute{a}x}$ (mg/L)	520
TRH (h)	15
$\mu_{max}$ ( $h^{-1}$ )	0,11
tg (h)	6,30
$P_X$ (mg/L.h)	36
$Y_{X/S}$ (mg <sub>biomassa</sub> /mg <sub>DQO</sub> )	0,17
$Y_{X/S}$ (mg <sub>biomassa</sub> /mg <sub>NTK</sub> )	11,4
E-NTK (%)	80,0
E-DQO (%)	85,0

$X_{m\acute{a}x}$ : concentração celular máxima, TRH: tempo de residência hidráulica,  $\mu_{max}$ : velocidade máxima específica de crescimento, tg: tempo de geração,  $P_X$ : produtividade em biomassa,  $Y_{X/S}$ : fator de conversão de substrato em células, E-NTK: eficiência de remoção de nitrogênio, E-DQO: eficiência de remoção de DQO.

A bioconversão do nitrogênio pelo metabolismo heterotrófico é decorrente da síntese intracelular de ácidos nucleicos, pigmentos e proteínas (Fay, 1983). A Figura 2 apresenta a variação dos teores de nitrogênio na biomassa da *Aphanothece microscopica Nægeli* ( $g_{nitrog\acute{e}nio}/g_{biomassa}$ ) e da concentração de nitrogênio do efluente durante o processo. Observa-se um comportamento proporcional e inverso ao corroborar os dois parâmetros, o que sugere a conversão parcial do nitrogênio do efluente diretamente à biomassa da *Aphanothece microscopica Nægeli*. Adicionalmente, se considerarmos o fator geral de conversão de nitrogênio em proteína (6,25), é possível estimar os teores proteicos da biomassa entre 31 a 45%. Nesse sentido, o balanço de massa para o elemento nitrogênio no tempo de residência ótimo (15h), no qual o teor de nitrogênio da biomassa verificado foi de 0,072 g/g, houve uma conversão de nitrogênio do efluente em proteína unicelular de 9,23%.



**Figura 2.** Variação do teor de nitrogênio da biomassa (símbolos fechados) e da concentração de nitrogênio do efluente (símbolos abertos) ao longo do processo.

Essa conversão representa a possibilidade de produção substancial de proteínas unicelulares a partir dessa água residuária, uma vez que o balanço de massa (Tabela 3)

indicou a possibilidade de produzir 234 g de proteína para cada m<sup>3</sup> de efluente tratado. De acordo com Zepka et al. (2010), as proteínas unicelulares obtidas por *Aphanothece microscopica Nägeli* cultivada no efluente da parboilização do arroz, apresentam balanço nutricional adequado, que permite o uso como fonte de proteína para a alimentação animal.

**Tabela 3.** Balanço de nitrogênio do processo.

Parâmetro	Valor
NTK (g/m <sup>3</sup> )	78,1
Geração de efluente (m <sup>3</sup> /ton arroz)	4,0
Geração de nitrogênio (g/ton)	312,4
Conversão de nitrogênio (%)	80,0
Concentração de biomassa (g/m <sup>3</sup> )	520
Teor de proteína na biomassa (%)	45,0
Produção de proteína (g/m <sup>3</sup> )	234

## 4. CONCLUSÃO

O controle de poluição nas últimas duas décadas, no Brasil, tem se caracterizado por um esforço no desenvolvimento de tecnologias de remoção de poluição carbonada. Recentemente o maior controle da poluição de compostos nitrogenados tem forçado o desenvolvimento de processos para a remoção desses poluentes das águas residuárias. Independente do gerenciamento e disposição dos resíduos, novas tecnologias que agreguem valor à cadeia produtiva e que estejam baseadas no desenvolvimento sustentável industrial efetivo devem ser elaboradas. O tratamento do efluente da parboilização do arroz em biorreatores heterotróficos com cianobactérias demonstrou ser uma técnica com potencial de aplicação tanto para a remoção de nitrogênio, quanto para a bioconversão em substâncias de interesse comercial.

## 5. REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION -APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20. ed. Washington: APHA, 2005.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS -AOAC. **Official methods of analysis**. 18.ed. Washington, D.C.: AOAC, 2000.
- FAY, P. **The Blue-Greens (Cyanophyta-Cyanobacteria)**. London: Edward Arnold, 1983. p. 1-88.
- FLORES, E.; HERRERO, A. Assimilatory nitrogen metabolism and its regulation. In: BRYANT, D. A. **The molecular biology of cyanobacteria**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. p. 409-435.
- ISOLDI, L.; KOETZ, P. R.; ISOLDI, L. A. Pós-tratamento de efluente nitrificado da parboilização de arroz utilizando desnitrificação em reator UASB. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 1413-4152, 2005.
- JACOB-LOPES, E.; SCOPARO, C. H. G.; QUEIROZ, M. I.; FRANCO, T. T. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 11, p. 894-900, 2010.

BASTOS, R. G.; SEVERO, M.; VOLPATO, G.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q.; QUEIROZ, M. I. Bioconversão do nitrogênio do efluente da parboilização do arroz por incorporação em biomassa da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nægeli*. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 5, n. 3, p. 258-264, 2010. ([doi:10.4136/ambi-agua.167](https://doi.org/10.4136/ambi-agua.167))

---

JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q.; SILVA, A. G.; HORNES, M. O.; QUEIROZ, M. I. Biorrefinarias microalgais suportadas em agroindústrias. In: CONGRESSO NACIONAL DE BIOPROCESSOS - SINAFERM, 17., 2009, Natal. **Anais...** Natal: UFRN, 2009.

MUGA, H. E.; MIHELIC, J. R. Sustainability of wastewater treatment technologies. **Journal of Environmental Management**, v. 88, n. 3, p. 437-447, 2008.

PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M. E.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **Water Research**, *In Press*, 2010, doi:10.1016/j.watres.2010.08.037.

PITTMAN, J. K.; DEAN, A. P.; OSUNDEKO, O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 17-25, 2011.

QUEIROZ, M. I.; KOETZ, P. R. Caracterização do efluente da parboilização do arroz. **Rev. Bras. de Agrociência**, v. 3, n. 3, p.139-143, 1997.

QUEIROZ, M. I.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q.; BASTOS, R.; GOLDBECK, R. The kinetics of the removal of nitrogen and organic matter from parboiled rice effluent by cyanobacteria in a stirred batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 11, p. 2163-2169, 2007.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria Estadual do Meio Ambiente. Conselho Estadual do Meio Ambiente – CONSEMA. **Resolução nº 128 de 24 de novembro de 2006**. Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão 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.

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. 1-61, 1979.

TAM, N. F. Y.; WONG, Y. S. Effect of immobilized microalgal bead concentrations on wastewater nutrient removal. **Environmental Pollution**, v. 107, n. 1, p. 145-151, 2000.

WANG, Y.; HUANG, X.; YUAN, Q. Nitrogen and carbon removals from food processing wastewater by an anoxic/aerobic membrane bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1733-1739, 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 Nægeli*. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 18, p. 7118-7122, 2010.