

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
CENTRO DE ENGENHARIAS – CENG
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA



Trabalho de Conclusão de Curso

**Avaliação da cinética de crescimento e consumo de substratos por
Aphanothece microscopica Nägeli no efluente de conservas**

Davi Sarubbi de Oliveira

Pelotas, 2016

DAVI SARUBBI DE OLIVEIRA

**Avaliação da cinética de crescimento e consumo de substratos por
Aphanothece microscopica Nägeli no efluente de conservas**

Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Adriana Gonçalves da Silva Manetti

Pelotas, 2016

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Adriana Gonçalves da Silva Manetti, Centro de Engenharias/UFPel
(Orientadora)

Prof^a. Dr^a. Vanessa Cerqueira, Centro de Engenharia/UFPel

Prof^a. Dr^a. Cláudia Fernanda Lemons e Silva, Centro de Engenharias/UFPel

“Dedico este trabalho à minha vó Ivone Machado Sarubbi que sempre me incentivou nos estudos e infelizmente não está mais presente para testemunhar essa conquista.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a toda minha família, especialmente minha avó Ivone (in memorian), minha mãe Juçara, meu irmão Gustavo e meu tio Gilmar, pessoas com quem sempre pude contar ao longo da vida e que não viam a hora desse diploma chegar.

À minha querida orientadora, Prof. Adriana Manetti, pela oportunidade de realizar esse trabalho, por estar sempre a disposição para ajudar e pelos “Vai dar tudo certo!” em momentos de frustração.

À Agência de Desenvolvimento da Lagoa Mirim, por permitir a realização das análises no seu laboratório, e às queridas Marília e Francine, por toda disposição e ajuda nas análises.

A todos que de alguma forma ajudaram na conclusão deste trabalho, especialmente a Laísa pela ajuda nos experimentos e à Conservas Oderich S/A por ceder o efluente para a pesquisa.

Ao pessoal do Projeto GAMA, ao qual me dediquei boa parte da faculdade e de onde levo um imenso aprendizado, em especial ao Prof. Alexandre Molter por ter me orientado e aturado todo esse tempo.

Aos colegas que passaram pelo curso; Edenara e Taiane pela parceria no começo de faculdade, a turminha 2010: Alana, Anita, Bianca, Camila, Gustavo, Karen, Kassia e Mateus por tornarem tudo mais divertido e ao Bruno e Renata, pelo nascer do sol no quadrado.

A todos da Engenharia Ambiental e Sanitária, professores e funcionários, que contribuíram na minha formação acadêmica e pessoal.

Aos amigos que me acompanharam ao longo na faculdade (alguns bons anos).

MUITO OBRIGADO!

Resumo

SARUBBI, Davi. **Avaliação da cinética de crescimento e consumo de substratos por *Aphanothece microscopica* Nägeli no efluente de conservas.** 2016. 48f. Trabalho de Conclusão de Curso — Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

A conserva de frutas e hortaliças é um importante fator econômico para Pelotas e região, gerando renda e empregos. Porém, a indústria de alimentos produz elevada quantidade de efluente contendo significativas quantidades de nutrientes que se descartados irregularmente podem gerar impactos ao meio ambiente. Os tratamentos convencionais com reatores anaeróbios apresentam dificuldade na remoção de alguns nutrientes, como o fósforo. Dentro desse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de remoção de nutrientes do efluente da indústria de conserva com o uso da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli bem como avaliar a cinética de crescimento celular no efluente e meio BG-11. Para isso foram realizados experimentos utilizando o efluente da indústria de conservas como meio de cultivo, inoculando-se 200mg.L^{-1} de inóculo na fase exponencial de crescimento, em um reator cilíndrico de mistura completa, na ausência de luz, 25°C , pH 7,6 e aeração constante. No meio padrão BG-11 foram realizados experimentos utilizando 200mg.L^{-1} de inóculo na fase exponencial de crescimento, fotoperíodo de 12 h, 25°C , 2 Klux de luminosidade, pH 7,6 e aeração constante. Os parâmetros cinéticos de crescimento celular e consumo de substratos limitantes foram monitorados a cada 4h. Os resultados obtidos indicaram o potencial de cultivo de *Aphanothece* no efluente da indústria de conservas. Os substratos limitantes apresentaram potencial quantitativo para suportar cultivos heterotróficos microalgais. Em termos cinéticos durante o cultivo no efluente, a cianobactéria apresentou um tempo de 16h de fase exponencial de crescimento, com máxima velocidade específica de crescimento de $0,0674\text{h}^{-1}$ e tempo de geração de 10,24h. No meio BG-11, esses parâmetros foram de 120h, $0,005\text{h}^{-1}$ e 138,63h, respectivamente. Nas condições experimentais, foram registradas, eficiências de remoção na ordem de 36% de DQO, 48% de nitrogênio e 96% de fósforo. *Aphanothece microscopica* Nägeli apresentou potencial de cultivo no efluente da indústria de conservas. Adicionalmente este processo pode ser considerado eficiente na estabilização da matéria orgânica e remoção de nutrientes desta água residuária.

Palavras-chave: cianobactéria, biorremoção de nutrientes, efluente da indústria de conserva.

Abstract

SARUBBI, Davi. **Evaluation of growth kinetics and substrate consumption by *microscopica* Nägeli in canning wastewater**. 2016. 48p. Course Conclusion Paper.- Graduation in Environmental and Sanitary Engineering. Federal University of Pelotas, Pelotas. 2016.

The preservation of fruits and vegetables is an important economic factor for Pelotas and the region, generating income and jobs. However, the food industry produces a high amount of wastewater containing significant amounts of nutrients that if discarded irregularly can generate impacts to the environment. Conventional treatments with anaerobic reactors have difficulty in the removal of some nutrients, such as phosphorus. In this context, the objective of this work was to evaluate the nutrient removal potential of the canning industry wastewater with the use of the cyanobacteria *Aphanothece microscopica* Nägeli as well as to evaluate the cell growth kinetics in the wastewater and BG-11 medium. For this, experiments were carried out using the effluent from the canning industry as a culture medium, inoculating 200mg.L⁻¹ of inoculum in the exponential growth phase, in a cylindrical reactor of complete mixing, in the absence of light, 25° C, pH 7.6 and Constant aeration. In the BG-11 standard medium experiments were performed using 200mg.L⁻¹ inoculum in the exponential growth phase, photoperiod of 12 h, 30°C, 2 Klux of lightness, pH 7.6 and constant aeration. The kinetic parameters of cell growth and consumption of limiting substrates were monitored every 4 h. The results indicate the potential of culture of *Aphanothece* in the wastewater of the canning industry. The limiting substrates presented quantitative potential to support microalgal heterotrophic cultures. In kinetic terms during the wastewater cultivation, cyanobacteria showed a time of 16h of exponential growth phase, with maximum growth specific velocity of 0.0674h⁻¹ and generation time of 10,24h. In BG-11 medium, these parameters were 120h, 0.005h⁻¹ and 138.63h, respectively. In the experimental conditions, removal efficiencies of 36% of COD, 48% of nitrogen and 96% of phosphorus were recorded. *Aphanothece microscopica* Nägeli showed potential of cultivation in the wastewater of the canning industry. Additionally this process can be considered efficient in the stabilization of the organic matter and nutrient removal of this wastewater.

Keywords: cyanobacteria, bioremediation of nutrients, wastewater from the canning industry.

Sumário

1 Introdução.....	12
2 Objetivos.....	14
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3 Revisão Bibliográfica.....	15
3.1 Efluentes da Indústria de Alimentos.....	15
3.2 Indústria de Conserva.....	16
3.2.1 Características do Efluente do processo de Conserva.....	17
3.2.2 Tratamento do Efluente da Indústria de Conserva.....	18
3.3 Tratamento de Efluentes com Cianobactéria.....	19
3.4 Cinética de Crescimento de Cianobactérias.....	20
3.5 Cianobactéria <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli.....	21
4 Materiais e Métodos.....	24
4.1 Preparação do Inóculo.....	24
4.2 Obtenção do Efluente.....	25
4.3 Caracterização do Efluente.....	25
4.3.1 DQO.....	26
4.3.2 Fósforo Total.....	26
4.3.3 Nitrogênio Total Kjeldahl.....	27
4.3.4 pH.....	27
4.3.5 Sólidos Suspensos.....	27
4.4 Cultivos de <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli no Efluente da Indústria de Conserva.....	28
4.5 Monitoramento e Amostragem.....	30
5 Resultados e Discussão.....	31
5.1 Caracterização do Efluente de Conserva.....	31
5.2 Avaliação da Cinética de Crescimento da <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli.....	32
5.2.1 Meio BG-11.....	32
5.2.2 Efluente da Indústria de Conservas.....	36
5.3 Remoção de nutrientes da <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli no efluente de conserva.....	39
6 Conclusões.....	43
7 Referências.....	44

Lista de Figuras

Figura 1	Fluxograma da estação de tratamento de efluentes da indústria de conserva.....	19
Figura 2	Cultivos de <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli.....	25
Figura 3	Biorreatores de mistura completa.....	29
Figura 4	Curva de crescimento para a <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli cultivada no meio padrão BG-11.....	34
Figura 5	Determinação da fase exponencial da curva de crescimento da <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli cultivada no meio padrão BG-11.....	35
Figura 6	Curva de crescimento para a <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli cultivada no efluente de conservas.....	37
Figura 7	Determinação da fase exponencial da curva de crescimento da <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli cultivada no efluente de conservas.....	38
Figura 8	Variação da concentração de DQO com o tempo no cultivo da cianobactéria <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli no efluente da indústria de conservas.....	40
Figura 9	Variação da concentração de N-NTK com o tempo no cultivo da cianobactéria <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli no efluente da indústria de conservas.....	41
Figura 10	Variação da concentração de $P-PO_4^{-3}$ com o tempo no cultivo da cianobactéria <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli no efluente da indústria de conservas.....	42

Lista de Tabelas

Tabela 1	Parâmetros iniciais dos efluentes do processamento de conservas.....	18
Tabela 2	Composição do meio de cultura BG-11.....	24
Tabela 3	Caracterização do efluente bruto da indústria de conserva.....	31
Tabela 4	Média e coeficiente de variação para a concentração celular dos 3 experimentos realizados em meio BG-11.....	33
Tabela 5	Variáveis cinéticas para <i>Aphanothece</i> cultivada no meio padrão BG-11.....	35
Tabela 6	Média e coeficiente de variação para a concentração celular dos 3 experimentos realizados no efluente de conserva.....	36
Tabela 7	Variáveis cinéticas para a <i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli cultivada no efluente de conserva na fase exponencial.....	39

Lista de Abreviaturas e Siglas

DQO	Demanda Química de Oxigênio
h	Horas
kg	Quilogramas
L	Litros
m ³	Metros Cúbicos
mg·L ⁻¹	Miligramas por Litro
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
p	Probabilidade
pH	Potencial Hidrogeniônico
Razão C/N	Razão Carbono/Nitrogênio
SS	Sólidos Suspensos
P-PO ₄ ⁻³	Fósforo
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket

1 Introdução

Na região de Pelotas, no Rio Grande do Sul, conhecida como capital nacional do doce, a produção de alimentos ocupa papel relevante na economia. Pelotas é a maior produtora de pêssego do país e juntamente com cidades da região produz a maior parte das compotas de pêssego industrializadas. Atualmente, existem 13 indústrias de conserva responsáveis por essa produção.

No entanto, a indústria de conservas despeja nos corpos receptores de 4 a 10L de água residuária por kg de matéria-prima processada, dependendo desta, poderá apresentar altas concentrações de matérias orgânica e nutrientes (SILVA et al, 2007). Em função disso diversos países especificam padrões máximos de emissão destes componentes presentes nos efluentes para serem descarregados nos corpos receptores. No estado do Rio Grande do Sul, Brasil, os limites máximos permitidos são de 400 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹ e 1 mg.L⁻¹ para os parâmetros DQO (Demanda Química de Oxigênio), NTK (Nitrogênio Total Kjeldahl) e P-PO₄⁻³ (fósforo), respectivamente (CONSEMA, 2006).

Dentro desse contexto, os lançamentos de efluentes líquidos em um curso d'água podem resultar em variações de suas características, como pH, temperatura, composição e concentração de cada componente. Os seres que dependem direta ou indiretamente do referido curso d'água sofrerão as consequências destas variações. Assim, a consciência crescente de que o tratamento de águas residuárias é de vital importância para a saúde pública e para o combate a poluição das águas de superfície tem levado a necessidade de investimentos em pesquisas que objetivam o desenvolvimento de sistemas de tratamento. Uma das alternativas que vem sendo estudada pela Universidade Federal de Pelotas é a utilização de cianobactérias, com o duplo propósito de tratar o efluente bem como reuso da água residuária. Estes microrganismos constituem um dos maiores subgrupos de procariontes Gram negativos e demonstram alta eficiência na remoção de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo e metais pesados além de apresentarem curto tempo de geração e fácil cultivo em pequenas áreas (GONZALEZ *et al.*, 1997; MARTINEZ *et al.*, 2000; NUNEZ *et al.*, 2001; QUEIROZ *et al.*, 2004). Estas características fazem destes microrganismos importantes alternativas a serem utilizadas em tratamento de efluentes.

As cianobactérias são definidas como microrganismos procariontes que apresentam como metabolismo preferencial a fotossíntese, com produção de oxigênio livre de forma similar às algas eucarióticas e plantas superiores. Algumas linhagens apresentam metabolismo respiratório, o qual fornece a quantidade de energia necessária para a manutenção destes organismos no escuro a partir do consumo de substratos orgânicos (FAY, 1983; ANAND, 1998; XU et al., 2006). Com isso, a utilização de cianobactérias no tratamento de efluentes tem demonstrado alta eficiência na redução de matéria orgânica e nutriente, como nitrogênio e fósforo dissolvidos em despejos urbanos e industriais (MARTINEZ et al., 2000; NUNEZ et al., 2001). Nesse processo a água residuária gerada pode ser reciclada após incorporação de seus nutrientes em uma biomassa com o propósito de redução da carga poluidora através da remoção de nutrientes bem como a possibilidade do uso da biomassa como fonte de proteína.

Aphanothece microscopica Nägeli é uma cianobactéria de representativa ocorrência ao redor da cidade de Rio Grande no Estado do Rio Grande do Sul. Apresenta um baixo tempo de geração quando cultivada no efluente de agroindústrias como da parboilização do arroz e do processamento de pescado e tem sido utilizada como elemento removedor de nutrientes dos efluentes das indústrias de alimentos com grande sucesso em pesquisas gerenciadas a nível laboratorial e piloto, assim como no aproveitamento das diversas substâncias presentes no efluente para a conversão em biomassa (QUEIROZ et al., 2002; BASTOS et al., 2004; HORNES & QUEIROZ, 2004; QUEIROZ et al., 2004; JACOB-LOPES et al., 2007; QUEIROZ et al., 2007; ZEPKA et al., 2008). No entanto, seu comportamento no efluente do processamento de conservas, bem como seu potencial de remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo quando desenvolvida neste efluente foi pouco estudado.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O trabalho tem como objetivo avaliar o potencial de remoção de nutrientes do efluente da indústria de conserva com o uso da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o efluente de uma indústria de conserva;
- Determinar a cinética de crescimento da *Aphanothece microscopica* Nägeli no meio BG-11;
- Determinar a cinética de crescimento da *Aphanothece microscopica* Nägeli no efluente da indústria de conserva;
- Analisar o desempenho da cianobactéria na remoção de matéria orgânica, fósforo e nitrogênio do efluente.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Efluentes da Indústria de Alimentos

A utilização da água nos processos industriais provoca uma alteração significativa de suas características, através da incorporação de substâncias, dando origem assim, ao efluente (GUERRERO et al., 1999; BERARDINO et al., 2000).

As características destes efluentes variam muito de indústria para indústria, e ainda dentro de uma mesma indústria, dependendo dos materiais usados e processos empregados. Os efluentes produzidos pela indústria de alimentos são caracterizados pela alta quantidade de matéria orgânica, constituída por compostos facilmente biodegradáveis, como carboidratos, proteínas e lipídios (GUERRERO et al., 1999; BERARDINO et al., 2000).

Analisando o efluente de 30 indústrias, Mohsen & Jaber (2002) verificaram que é descartado em média, 10.200 m³/dia de efluentes, destes, 4.400 m³/dia são descartados no sistema público de esgoto. Destas indústrias, 19 são de alimentos e descartam 5,3 ton DBO/dia, dos quais 2,2 ton DBO/dia são liberados no sistema de esgoto público.

Os efluentes gerados a partir da industrialização de frutas e hortaliças apresentam aproximadamente 75% do total de matéria orgânica solúvel (BERTOLA et al., 1999). Algumas dessas indústrias variam a produção durante o ano, pois a matéria prima que elas processam depende da estação do ano, como consequência o efluente resultante varia significativamente durante o ano tanto em quantidade como nas características (KOETZ, 1986; MOHSEN & JABER, 2002; JANCZUKOWICZ et al., 2007).

Bastos et al. (2010) identifica a parboilização do arroz como um dos principais processos de beneficiamento do cereal, sendo um processo que envolve significativo volume de água, resultando em um elevado volume de efluente, que em média, gera 4 m³ por tonelada de arroz processado.

Os efluentes das indústrias de alimentos são caracterizados por alto conteúdo de compostos carbonados, nitrogenados e fosforados (WANG et al., 2005). Reforçado por Bastos et al. (2010) que encontraram 4106,8 mg/L, 78,1 mg/L e 53,9 mg/L em média de DQO, NTK e P-PO₄⁻³, respectivamente, na água residuária proveniente da parboilização de arroz.

Na indústria de laticínios, os efluentes apresentam variações significativas de matéria orgânica e sólidos suspensos ao longo do dia, dependendo também, do tipo de produto processado. Muitos destes produtos são manufaturados separadamente, fazendo com que a carga poluente apresente mudanças ao longo do período de produção. A carga de compostos orgânicos neste tipo de efluente é determinada pela quantidade de lactose, lipídios e proteínas, e a relação entre estas substâncias pode ser extremamente variada, o que afeta a sua susceptibilidade ao tratamento biológico (JANCZUKOWICZ et al., 2007).

Segundo Silva-Manetti (2008) os efluentes das indústrias pesqueira são caracterizados por apresentarem uma elevada presença de matéria orgânica e sólidos suspensos. A concentração varia, pois em época de maior captura, a geração de efluente é maior devido a grande quantidade de matéria-prima, enquanto em determinadas ocasiões trabalha-se somente o que está em estoque.

Os efluentes são gerados em diversas etapas do processamento do pescado, tais como: recepção do pescado, condensação nas câmaras frigoríficas, evisceração, salmoura, acondicionamento em latas, cozimento, adição do óleo, recravamento das latas, lavagens das latas, autoclavagem e lavagens para resfriamento, além da lavagem de pisos e equipamentos (GONZÁLEZ, 1995).

3.2 Indústria de Conserva

A região de Pelotas, no Rio Grande do Sul, é historicamente uma zona de produção de alimentos, começando pelo charque, que foi a primeira economia da região, passando posteriormente para o arroz, beneficiamento da soja e industrialização de frutas. A indústria de conservas de hortaliças e frutas surgiu em fins do século XIX e inícios do século XX, quando se formaram várias pequenas fábricas junto às propriedades de produtores rurais. Até os anos 1970, o ramo era composto, basicamente, por pequenos empreendimentos artesanais (FERREIRA, 2011).

Esse cenário de fábricas artesanais de conservas começa a se transformar a partir dos anos 70. A Cica, uma empresa familiar como as que existiam no local, foi a primeira grande indústria do ramo alimentício da região. A partir dessa empresa, o município montou seu parque industrial (TAVARES, 2000).

Dessa década em diante, o setor aumenta sua produtividade, diversifica a produção, expande empresas e atrai empresários de outros Estados. Contudo, a partir de 1980, uma crise fecha a maioria das fábricas do setor nesses anos. Das 100 empresas que se registrava em 1950, havia somente 40 em 1980 e 18 nos fins do mesmo decênio. No final da primeira década de 2000, existiam apenas 12 fábricas de conservas na região de Pelotas (FERREIRA, 2011). Atualmente, segundo o Sindicato da Indústria de Doces e Conservas Alimentícias de Pelotas, existem 13 fábricas que produzem em média 60.000.000 de latas de Pêssego em Calda por ano, que é o carro chefe do setor conserveiro pelotense.

Segundo Ferreira (2011), a indústria de conserva de Pelotas e região, era responsável por 98% das compotas de pêssego produzidas no mercado brasileiro naquele ano.

3.2.1 Características do Efluente do processo de Conserva

A indústria de conserva de frutas e vegetais é estruturada, geralmente, de modo a poder industrializar, isolada ou simultaneamente, diferentes matérias-primas, utilizando diversos processos que, de acordo com o produto final, originarão efluentes característicos. Os efluentes, oriundos do processo industrial, são formados, em todos os casos, pela mistura de águas de lavagem, descasque, cozimento das matérias-primas na sua etapa inicial de preparo com aquelas usadas na limpeza diária dos equipamentos e dos setores de industrialização. Resíduos de calda e salmoura originados, tanto nos seus preparos como nas operações de enchimento, exaustão e recravação dos recipientes, geralmente, são incorporados no efluente (KOETZ, 1986).

Huber (2007) ao caracterizar o efluente da indústria de conserva encontrou valores de DQO, em mg.L^{-1} , de mínimo 1.822 e máximo 10.276, com média de 3.780.

A tabela 1 mostra os parâmetros encontrados por Silva et al. (2007) na caracterização do efluente de processamento de conserva.

Tabela 1 - Parâmetros iniciais dos efluentes do processamento de conservas

Parâmetros	Tipos de conserva	
	Milho	Figo e Pêssego
Temperatura (°C)	30	25
pH	5,44	8,9
DQO (mg.L ⁻¹)	5675,28	7968,68
N-NTK (mg.L ⁻¹)	74,97	68,58

Fonte: SILVA et al. (2007)

Trnovec e Britz (1998) analisando o efluente de frutas em conserva, encontraram uma concentração média de 4432mg.L⁻¹, 5,32mg.L⁻¹ e 21,4mg.L⁻¹, de DQO, Fósforo e NTK, respectivamente.

3.2.2 Tratamento do Efluente da Indústria de Conserva

Os tratamentos biológicos consistem em reproduzir, com o máximo de velocidade e eficiência, os processos naturais de degradação da matéria orgânica realizados por microrganismos presentes na água e no solo. Eles utilizam a aptidão dos microrganismos em transformar, direta ou indiretamente, os poluentes em compostos simples que podem ser reintegrados aos grandes ciclos biogeoquímicos, a fim de assegurar suas necessidades metabólicas (BIDONE, 2001).

Dentre os tratamentos biológicos de águas residuárias, o reator UASB(Upflow Anaerobic Sludge Blanket) é o mais utilizado no Brasil. Dentre suas vantagens estão a capacidade de reter alta concentração de biomassa com alta velocidade de fluxo ascensional e produção de biogás. O processo anaeróbio possui baixa taxa de produção de biomassa, apenas 10 % a 20 % do volume produzido no aeróbio. Devido à essa reduzida taxa de crescimento dos microrganismos no sistema anaeróbio, o processo é mais suscetível a desequilíbrios, provocados por substâncias nocivas a esses organismos (LOPES & CAMPOS, 1996).

Vieira (1988) aponta o custo baixo, a baixa produção de biomassa e a simplicidade operacional como fatores do sucesso desse sistema de tratamento no Brasil.

A figura 1 apresenta o modelo mais comum de tratamento de efluentes de conserva usado no Brasil.

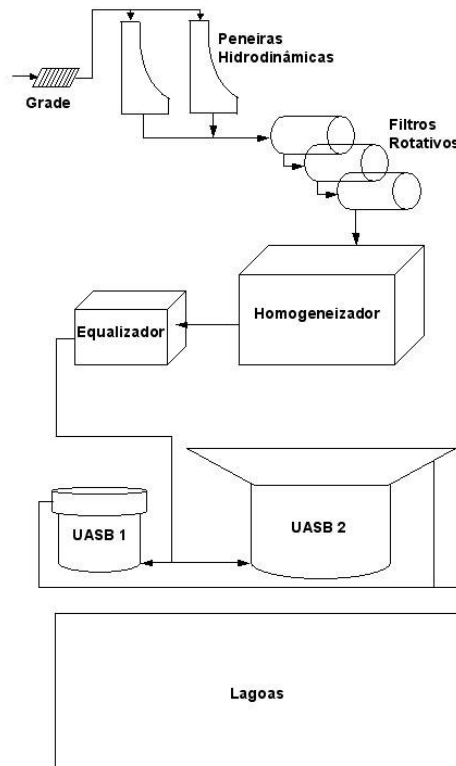


Figura 1 - Fluxograma da estação de tratamento de efluentes da indústria de conserva

Fonte: HUBER (2007)

O uso de reatores UASB no tratamento de efluentes de indústrias de conservas, com produções sazonais, tem sido mostrado como opção viável segundo Trnovec & Britz (1998), apresentando reduções da demanda química de oxigênio (DQO) maiores que 93 % e tempo de detenção hidráulica de inferior a 12 h.

Porém, reatores UASB apresentam dificuldade na remoção de fósforo. Sousa (1997), em seus experimentos, sem a adição de fontes de ferro, conseguiu a remoção de apenas 12,5% do fósforo presente no efluente.

3.3 Tratamento de Efluentes com Cianobactéria

As cianobactérias são micro-organismos procariontes capazes de realizar fotossíntese para a obtenção de energia, extremamente abundantes no planeta Terra (WHITTON, 2012). Além da fotossíntese, as cianobactérias possuem metabolismos auxiliares para a obtenção de energia, como a fixação de nitrogênio molecular através de células específicas, denominadas de heterocistos, e a utilização de compostos orgânicos como fonte de carbono, permitindo, deste modo,

que as cianobactérias sobrevivam à ausência de luminosidade (ESTEVES, 1998; MADIGAN et al., 2004; LOURENÇO, 2006).

Segundo Lourenço (2006), a presença de cianobactérias é comum em todos os ambientes aquáticos tanto de água doce, onde é mais comumente encontrada, como de salgada, e também em ambientes terrestres úmidos.

Os sistemas mais usuais de remoção de matéria orgânica e nitrogênio oriundos de efluentes industriais são geralmente compostos de uma etapa de nitrificação, através da digestão anaeróbica, e desnitrificação, envolvendo sistemas aerados (QUEIROZ et al., 2007). Porém, sistemas utilizando microalgas e cianobactérias são capazes de remover matéria orgânica e nitrogênio em uma única etapa. (ORTIZ et al., 1997; XING et al., 2000; QUEIROZ et al., 2007).

3.4 Cinética de Crescimento de Cianobactérias

Segundo Crueger e Crueger (1993) a velocidade específica de crescimento e a concentração do inóculo estão relacionadas ao aumento da biomassa de micro-organismos. E estas, geralmente em função de três parâmetros: concentração inicial do substrato limitante, velocidade máxima de crescimento e de uma constante específica de cada substrato.

De acordo com Metcalf e Eddy (1991), o ciclo de operação de um processo descontínuo compreende os seguintes períodos:

I) fase lag, período no qual o micro-organismo se encontra em sua fase de adaptação ao meio, na qual as células sintetizam as enzimas que lhes são necessárias para metabolizar os substratos presentes;

II) fase log, período no qual se verifica crescimento exponencial de micro-organismos, sendo o tempo de duração desta fase em função do tamanho do inóculo, idade das células e do seu estado bioquímico, também denominada fase logarítmica ou exponencial;

III) fase estacionária, período em que o número de células permanece constante e que corresponde ao esgotamento do meio de cultura devido ao desaparecimento de um ou de vários compostos necessários ao crescimento;

IV) fase de morte ou declínio, período no qual a taxa de morte excede a produção de novas células, havendo o decréscimo da concentração celular.

Segundo Trevan et al. (1990) uma forma de reduzir o tempo de latência é utilizar o inóculo recolhido em fase exponencial preparado no mesmo meio que o utilizado no processo, pois assim a fase de adaptação é reduzida, e o processo se dá mais rapidamente.

A partir das curvas de consumo dos diferentes substratos e concentração do micro-organismo em função do tempo é possível determinar, em cada instante, as velocidades de consumo do substrato (dS/dt) e de crescimento do micro-organismo (dX/dt). Considerando que, um intervalo de tempo correspondente à fase exponencial, a concentração do micro-organismo tenha sofrido uma variação, pode-se determinar a produção de biomassa. (METCALF e EDDY, 1991).

As cianobactérias se multiplicam por fissão binária, na qual a célula original forma dois novos organismos, duplicando sua população. Esse tempo requerido para cada fissão é denominado tempo de geração (t_g). Cada micro-organismo possui seu próprio t_g , que pode variar de minutos à dias. Na fase exponencial de crescimento, o tempo de geração é determinado pelo logaritmo de 2 dividido pelo máxima velocidade específica de crescimento. (METCALF e EDDY, 1991; VON SPERLING, 1997).

3.5 Cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli

Aphanothece microscopica Nägeli é uma cianobactéria de coloração verde azulada escura, caracterizada por apresentar células cilíndricas, formar colônias macroscópicas amorfas, com mucilagem abundante, firme e rígida. Com células adultas elípticas cilíndricas, conteúdo celular finamente granulado, medindo $9,0 - 9,5 \mu\text{m} \times 4,2 \mu\text{m}$, e divide-se por fissão binária (HALPERIN et al., 1974).

Aphanothece microscopica Nägeli é de comum ocorrência no estuário da Lagoa dos Patos, no estado do Rio Grande do Sul, segundo diversos estudos, demonstrou grande potencial de aplicabilidade no tratamento e reuso de efluentes do setor agroindustrial, principalmente, devido a sua capacidade de remover de nutrientes e matéria orgânica presentes no mesmo (BASTOS; PADILHA e BENERI, 1999; QUEIROZ et al., 2001; QUEIROZ et al., 2002; BASTOS et al., 2004; SILVA et al., 2007; SILVA-MANETTI, 2008; SILVA-MANETTI, 2012; BONINI e BASTOS, 2013; BRÄCHER, 2015).

O cultivo de *Aphanothece microscopica* Nägeli no efluente gerado no processo de parboelização de arroz na ausência de luminosidade, foi estudado por Bastos et al. (2004) no qual verificaram a viabilidade de cultivo neste meio, devido aos resultados de crescimento da concentração celular e remoção de nitrogênio e matéria orgânica.

Estudos realizados por Silva et al. (2005) mostraram que a *Aphanothece microscopica* Nägeli foi capaz de remover 42,1% de DQO e 58,5% de nitrogênio total Kjeldahl do efluente do processamento de milho em uma indústria de conservas da região sul do Brasil e, 53,7% de DQO e 73,2% de nitrogênio total Kjeldahl para o processamento de pêssego nesta mesma indústria. O experimento também foi realizado na ausência de luz em um ambiente com aeração contínua e controle de temperatura.

Silva-Manetti (2008) avaliou a possibilidade do uso da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli como tratamento secundário de efluentes da indústria de pescados, associado à utilização de coagulantes, visando posterior reutilização do efluente tratado. O experimento apresentou remoção de 84% de amônia, 66% de sólidos totais, 83% de sólidos suspensos, 99% de DQO, 87% de turbidez e 99% de fósforo do efluente, demonstrando-se satisfatório para o tratamento deste tipo de efluente. E ainda apontou o efluente tratado com o potencial reuso em sistemas de refrigeração.

Silva-Manetti (2012), analisou a aplicação de *Aphanothece microscopica* Nägeli no tratamento do efluente da indústria de laticínios. Segundo os autores, foram obtidas remoções na ordem de 81% de Amônia, 86% de N-NTK, 75% de fósforo, 69% de ferro e 78% de DQO, demonstrando, assim, seu potencial neste tipo de efluente. Esse tratamento com *Aphanothece microscopica* Nägeli quando associado ao uso de coagulantes e posterior microfiltração, obteve-se em torno de 95% de eficiência em quase todos parâmetros analisados. Neste trabalho também foi comparado as características do efluente no pós-tratamento com os parâmetros recomendados para reutilização de efluentes para sistemas de refrigeração e de potabilidade de água, e verificou que a associação de associação da *Aphanothece microscopica* Nägeli com posterior uso de coagulantes e microfiltração se demonstra eficaz ao reuso do efluente de laticínios para refrigeração e se adéqua as características de potabilidade de água.

Recentemente, uso da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nägeli* demonstrou potencial no tratamento de efluente de curtume, apresentando uma taxa de remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, de 72,3%, 51,9% e 94,7%, respectivamente. Além da eficiência de remoção na ordem de 99,8% de cromo total e 97,1% de ferro total. (BRÄCHER, 2015).

4 Materiais e Métodos

4.1 Preparação do Inóculo

A cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli foi cultivada em meio padrão BG-11 (RIPKA et al., 1979), conforme a tabela 2. Os cultivos foram realizados e monitorados em garrafas de polietileno em uma sala de cultivo com luminosidade de 2 klux, temperatura de 25°C, fotoperíodo de 12h e aeração constante, conforme indicado por Bastos et al. (1999) e ilustrado na figura 2.

Tabela 2 - Composição do meio de cultura BG-11

Componentes	Concentração (g.L⁻¹)
K ₂ HPO ₄ . 3H ₂ O	0,04
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,075
Na ₂ EDTA	0,001
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,222
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0,39
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,079
CaCl ₂ . 6H ₂ O	0,04
Ácido cítrico	0,006
Citrato férrico e amônio	0,006
NaNO ₃	15
pH	7,4 – 7,6

Fonte: RIPKA et al., 1979



Figura 2 - Cultivos de *Aphanothece microscopica* Nägeli.

Fonte: Imagem própria.

4.2 Obtenção do Efluente

O efluente foi obtido de uma indústria de conservas localizada no município de Pelotas, no bairro Fragata, próxima às BRs 116 e 471, com coordenadas - 31.746423, -52.399984.

As coletas foram realizadas no período de Março à Agosto de 2016 com garrafas de polietileno, retiradas do tanque de equalização e transportada para o Laboratório de Águas e Efluentes da Agência de Desenvolvimento da Lagoa Mirim para as análises físico-químicas.

4.3 Caracterização do Efluente

O efluente da indústria de conserva foi caracterizado quanto aos parâmetros: Demanda Química de Oxigênio (DQO), fósforo total ($P-PO_4^{-3}$), nitrogênio total Kjeldahl (N-NTK), potencial hidrogênico (pH) e sólidos suspensos (SS). Todas as

análises foram executadas de acordo com a metodologia apresentada no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), conforme descritas nos itens 4.3.1 ao 4.3.6.

4.3.1 DQO

De acordo com *Standard Methods* (APHA, 2005) o princípio da análise de DQO consiste na oxidação química da matéria orgânica presente numa amostra em meio ácido, utilizando-se o ácido sulfúrico (H_2SO_4) um agente oxidante forte em excesso, o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), sendo a reação catalisada por sulfato de prata (Ag_2SO_4). Com isso, a definição de DQO pode ser estabelecida como a medida da quantidade de oxidante químico necessário para oxidar a matéria orgânica de uma amostra. É expressa em miligramas de oxigênio por litro ($mgO_2.L^{-1}$). A equação 1 apresenta o cálculo para quantificação de DQO.

$$DQO(mg\ O_2.L^{-1}) = \frac{(A-B) \times C \times F_n \times 8000}{V\ amostra(mL)} \times F_d \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

A – Volume gasto de titulante no branco (mL);

B – Volume gasto de titulante na amostra (mL);

C – Concentração da solução ($mg.L^{-1}$)

F_n – Fator normal do titulante;

F_d – Fator de diluição da amostra.

4.3.2 Fósforo Total

Para análise do fósforo total a amostra passou por digestão em balão contendo ácido sulfúrico e ácido nítrico, até o desaparecimento da coloração.

Após, a amostra foi transferida para balão volumétrico onde foram adicionados fenolftaleína, hidróxido de sódio 6N e vanado-molibdato, e avolumado com água destilada. Após 40 minutos de repouso, as amostras foram quantificadas através de leitura de absorbância em um espectrofotômetro da marca Even modelo IL-266em que foi utilizado um comprimento de onda de 470nm.

A equação 2 apresenta o cálculo da concentração de fósforo:

$$P - PO_4^{-3} (mg P.L^{-1}) = A \times Fd \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

A – Concentração calculada a partir da curva ($mg.L^{-1}$);

Fd – Fator de diluição da amostra.

4.3.3 Nitrogênio Total Kjeldahl

A determinação se baseia na soma de amônia livre e de compostos orgânicos nitrogenados, os quais são convertidos em sulfato de amônia sob certas condições de digestão, segundo metodologia descrita por Standard Methods (APHA, 2005). A equação 3 apresenta o cálculo para quantificar o N-NTK.

$$N - NTK (mg N.L^{-1}) = \frac{(A-B) \times C \times 14000 \times Fn}{V \text{ amostra (mL)}} \times Fd \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

A – Volume gasto de titulante com a amostra (mL);

B – Volume gasto de titulante com o branco (mL);

C – Concentração do titulante ($mg.L^{-1}$);

Fn – Fator normal do titulante;

Fd – Fator de diluição da amostra;

4.3.4 pH

A medição do pH foi realizada em pHmetro digital da marca Quimis, modelo Q400AS.

4.3.5 Sólidos Suspensos

Foi coletado um volume conhecido de amostra, filtrado em membrana filtrante Milipore 0,45 μ m, previamente tarada, e seco em estufa a 60°C até peso constante.

A equação 4 apresenta o cálculo para a concentração de sólidos suspensos.

$$SS(mg\ SS.L^{-1}) = \frac{(A-B) \times 1000000}{V\ amostra(mi)}$$

Equação 4

Onde:

A – Peso da membrana com amostra seca (g);

B – Peso da membrana (g).

4.4 Cultivos de *Aphanothece microscopica* Nägeli no Efluente da Indústria de Conserva

Foram realizados experimentos utilizando o efluente da Indústria de Conservas como meio de cultivo para a cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli. Para isso, foi inoculado $200mg.L^{-1}$ em 4 litros de efluente em reator descontínuo de mistura completa em sistema descontínuo, conforme se observa na figura 3, a $25^{\circ}C$, ausência de luminosidade, aeração constante e pH 7,6. Foram monitorados em intervalos de tempo de 4 horas e foram retiradas alíquotas de amostra para posteriores determinações analíticas e construção da curva de crescimento, num período de 36 horas.



Figura 3 - Biorreatores de mistura completa.

Fonte: Imagem própria.

A eficiência de remoção após a inoculação do efluente com a *Aphanothece microscopica* Nägeli foi calculada mediante a equação 5.

$$E = \left(1 - \frac{CB}{CA}\right) \times 100$$

Equação 5

Onde:

CA = Concentração do constituinte no efluente do tanque de equalização;

CB = Concentração do constituinte após o tratamento com *Aphanothece microscopica* Nägeli.

4.5 Monitoramento e Amostragem

As amostras coletadas foram filtradas em filtro Millipore com membrana 0,45 μm e secas até peso constante a 60 °C. Após a secagem, a membrana contendo as células foi pesada e a biomassa determinada por diferença de peso seco.

A cinética de crescimento para este microrganismo foi determinada segundo os parâmetros cinéticos indicado por Baily & Ollis, 1986; Ahmad & Holland, 1995, conforme as equações abaixo descritas:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max}X \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

μ_{max} - Máxima velocidade específica de crescimento do microrganismo (h^{-1});

dX - Variação da concentração celular (mg.L^{-1});

dt - Variação do tempo (h);

X - Concentração celular (mg.L^{-1}).

Com a integração da velocidade de crescimento se obtém a equação do crescimento exponencial:

$$X = X_0 e^{\mu_{max}(\Delta t)} \quad \text{Equação 7}$$

Onde:

X - Concentração celular no final da fase exponencial (mg.L^{-1});

X_0 - Concentração celular no início da fase exponencial (mg.L^{-1});

μ_{max} - Máxima velocidade específica de crescimento do microrganismo (h^{-1});

Δt - Intervalo de tempo do crescimento exponencial (h).

O tempo de geração, que corresponde ao tempo necessário para que o microrganismo duplique-se na fase exponencial, foi calculado conforme a equação a seguir.

$$tg = \frac{\ln 2}{\mu_{max}}$$

Equação 8

Onde:

Tg - Tempo de geração (h);

μ_{max} - Máxima velocidade específica de crescimento (h^{-1}).

5 Resultados e Discussão

5.1 Caracterização do Efluente de Conserva

Os valores médios de caracterização do efluente da indústria de conservas que compreendem os parâmetros: pH, sólidos suspensos (SS), matéria orgânica (DQO), nitrogênio Total (N-NTK) e fósforo total ($P-PO_4^{3-}$), estão expressos na tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização do efluente da indústria de conserva

Parâmetros	Valores
pH	3,45
SS	112 mg.L ⁻¹
DQO	11.147 mg.L ⁻¹
N-NTK	14.26 mg.L ⁻¹
$P-PO_4^{3-}$	4,87 mg.L ⁻¹

Em relação ao pH, o efluente apresentou valor de 3,45. Estes valores estão de acordo com Queiroz et al. (2002) que registraram uma faixa de pH que variou entre 4,00 e 4,60 para o efluente da parboilização do arroz. Trnovec e Britz (1998) e Silva et al. (2007), caracterizaram o efluente de frutas e milho em conserva, respectivamente, e obtiveram valores de pH na ordem de 5,44. 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 partir dessa constatação, para o efluente da indústria de conservas, faz-se necessário o ajuste do pH em torno de 7,6, que é o valor ideal de cultivo da *Aphanothece microscópica* Nägeli, entre 7,6 e 7,8 (RIPKA et al., 1979).

Através da análise da tabela 3, pode-se verificar o valor de DQO de 11.147mg.L^{-1} , resultado semelhante ao registrado por Huber (2007), em que registrou concentrações de até 10.276mg.L^{-1} .

Com relação as variáveis N-NTK e P-PO_4^{3-} , observa-se na tabela 3 valores médios de $14,26$ e $4,87\text{mg.L}^{-1}$, valores semelhantes aos reportados por Trnovec e Britz (1998) obtiveram, para efluente da indústria de milho, valores de nitrogênio e fósforo bastante semelhantes, $21,4\text{mg.L}^{-1}$ e $5,3\text{mg.L}^{-1}$, respectivamente.

No que se refere aos valores de N-NTK, observa-se também, que estes dados, são inferiores aos registrados por outros autores, para o tipo de efluente em análise (SILVA et al. 2007; HUBER 2007). No presente trabalho valores médios de $14,26\text{mg.L}^{-1}$, foram registrados. Já, Silva et al. (2007), registraram valores na ordem de, para efluente do processamento de milho em torno de $74,97\text{mg.L}^{-1}$, bem como de figo e pêssago, valores em torno de $68,58\text{mg.L}^{-1}$.

5.2 Avaliação da Cinética de Crescimento da *Aphanothece microscopica* Nägeli

O estudo da cinética do crescimento da *Aphanothece microscopica* Nägeli cultivada no meio padrão BG-11 e no efluente da indústria de conservas, a partir de 3 repetições tanto no efluente como no meio padrão, correspondendo um total de 6 experimentos realizados, são discutidos a seguir.

5.2.1 Meio BG-11

A tabela 4 apresenta os valores médios da concentração celular em função do tempo de cultivo do microrganismo e coeficiente de variação para os três experimentos realizados no meio padrão BG-11.

Tabela 4 - Média e coeficiente de variação para a concentração celular dos 3 experimentos realizados em meio BG-11

Tempo (h)	Média da Concentração Celular (mg.L ⁻¹)	*C.V. (%)
0	374	18,21
8	385	16,57
16	399	7,06
20	365	11,82
36	424	6,53
46	457	8,13
64	453	4,89
70	455	12,45
80	458	0,43
104	576	10,91
130	580	8,43
152	580	9,46
160	590	10,03
180	665	6,26
200	833	9,30
204	828	4,61
208	800	2,37
224	815	2,22
230	793	1,06
248	726	5,77
252	699	6,30
280	690	3,13

*C.V.: Coeficiente de variação.

Analisando-se os coeficiente de variação expresso na Tabela 4 constata-se de uma forma geral baixa variabilidade entre as concentrações celulares em função do tempo para os 3 experimentos em análise. O maior valor registrado (18,21%) para o ponto inicial dos experimentos, pode ser atribuído as diferenças de inóculos, 379mg.L⁻¹, 440mg.L⁻¹ e 304mg.L⁻¹, para o primeiro, segundo e terceiro experimento respectivamente. Queiroz (1998) demonstrou não existir diferença significativa ($p \leq 0,05$) na produção de biomassa quando é utilizado inóculos de 300 e 500mg.L⁻¹.

A figura 4 expressa o comportamento da curva de crescimento da *Aphanothece microscopica* Nägeli cultivada no meio padrão BG-11. É registrado no eixo das abcissas o tempo de cultivo em horas e na ordenada o logarítmico neperiano da concentração celular

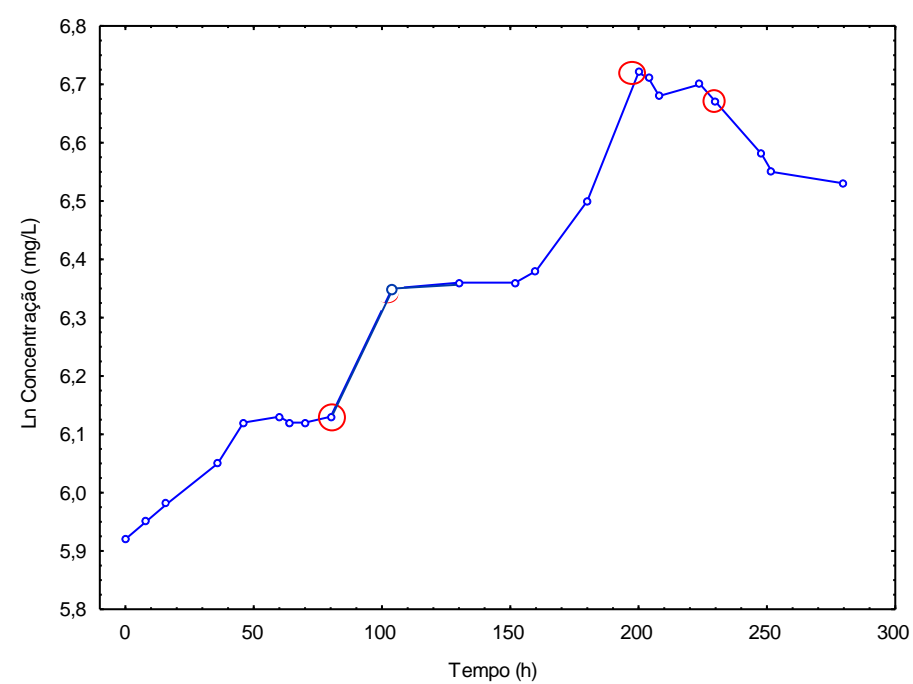


Figura 4 - Curva de crescimento para a *Aphanothece microscopica Năgeli* cultivada no meio padrão BG-11 (valores médios de 3 repetições).

Na figura 4, três pontos estão destacados, que corresponde ao meio e fim da fase exponencial e fase estacionária de crescimento do microrganismo, pontos estes em que foram tomadas as amostras para a curva de crescimento.

A determinação da fase exponencial é expressa pela figura 5, a qual é descrita pela equação $y = 5,7526 + 0,0044x$, com coeficiente de correlação de 0,9594, onde y é o logaritmo neperiano da concentração celular e x é definido como tempo de cultivo. Este modelo define a fase logarítmica como tendo uma duração de 120h.

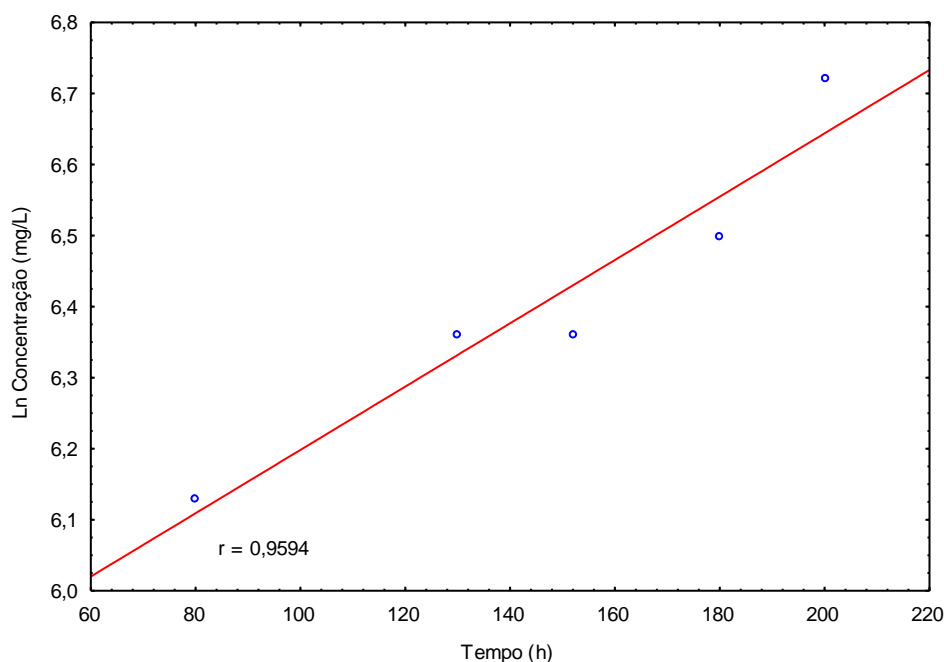


Figura 5 - Determinação da fase exponencial da curva de crescimento da *Aphanothece microscopica* *Nägeli* cultivada no meio padrão BG-11

A avaliação da cinética da *Aphanothece microscopica* *Nägeli* cultivada no meio padrão BG-11 pode ser avaliada na tabela 5, onde são expressos os parâmetros máxima velocidade de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) e tempo de geração (tg), calculados com base no tempo de duração da fase log e das concentrações celulares inicial ($X_0 = 458 \text{ mg.L}^{-1}$) e final ($X = 833 \text{ mg.L}^{-1}$).

Tabela 5 - Variáveis cinéticas para *Aphanothece* cultivada no meio padrão BG-11

*Variáveis Cinéticas	Valores Obtidos
Δt	120
X (mg.L^{-1})	833
Xo (mg.L^{-1})	258
tg (h)	138,63
μ_{max} (h^{-1})	0,005

* Δt : Intervalo de tempo da fase exponencial de crescimento; X: Concentração celular final; X_0 : Concentração celular Inicial; tg: Tempo de geração; μ_{max} : Máxima velocidade específica de crescimento.

A partir da análise dos dados verifica-se que a duplicação celular ocorreu a partir das 138,63 h com uma máxima velocidade de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) de $0,005 \text{ h}^{-1}$.

O intervalo de duração da fase exponencial varia de um microrganismo para outro, em função das condições do meio de cultivo, idade do inóculo, bem como seu estado fisiológico (MEEKS & CASTENHOLZ, 1971).

5.2.2 Efluente da Indústria de Conservas

A tabela 6 apresenta os valores médios da concentração celular em função do tempo de cultivo do microrganismo e coeficiente de variação para os três experimentos realizados no efluente da indústria de conservas.

Tabela 6 - Média e coeficiente de variação para a concentração celular dos 3 experimentos realizados no efluente de conserva

Tempo (h)	Média da Concentração Celular (mg.L ⁻¹)	*C.V. (%)
0	176	1,14
4	271	12,92
8	308	7,14
12	432	11,11
16	537	6,52
24	556	10,79
28	549	20,58
32	632	31,96
36	608	32,24

*C.V.: Coeficiente de variação.

A figura 6 expressa o comportamento da curva de crescimento da *Aphanothece microscopica* Nägeli cultivada no efluente da indústria de conservas. É registrado no eixo das abcissas o tempo de cultivo em horas e na ordenada o logarítmico neperiano da concentração celular.

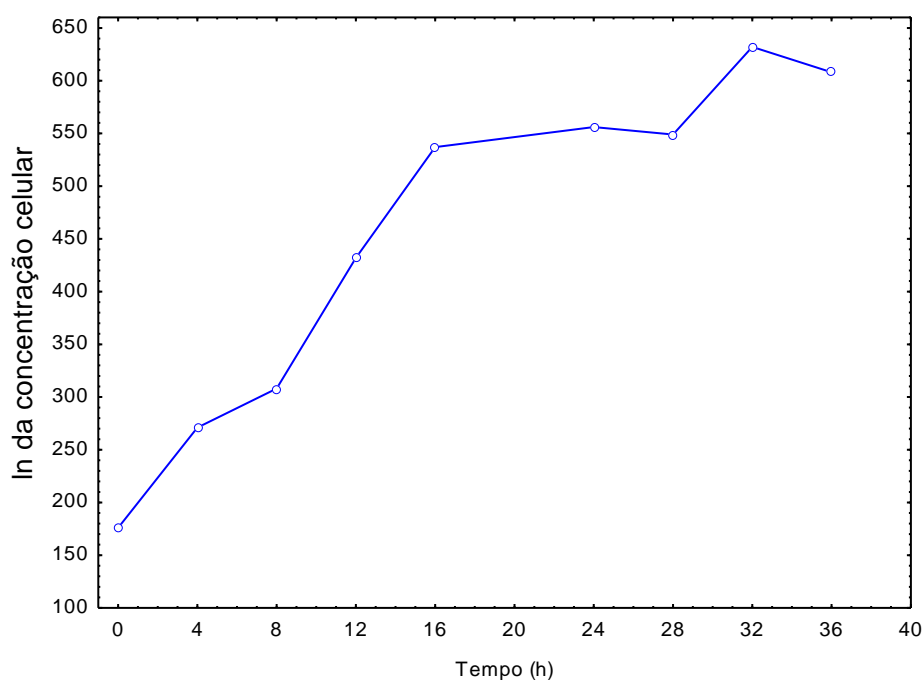


Figura 6 - Curva de crescimento para a *Aphanothece microscopica* Nægeli cultivada no efluente de conservas (valores médios de 3 repetições)

A fase logarítmica de crescimento no meio padrão BG-11 (figura 4) teve início após 80 horas de cultivo, com duração de 120 horas. No cultivo no efluente da indústria de conservas (figura 6), esta fase teve duração de 16 horas. O intervalo de duração da fase exponencial varia de um microrganismo para outro, em função das condições do meio, idade do inoculo, bem como seu estado fisiológico (MEEKS & CASTENHOLZ, 1971).

Observa-se pelo comportamento da curva de crescimento do microrganismo no meio BG-11 a existência de uma fase lag. Segundo Faintuch, Satos e Aquaroni (1992), uma fase de adaptação do microrganismo é registrada nos cultivos de cianobactérias, quando o nitrogênio é fornecido na forma oxidada de nitrato, o qual precisa ser reduzida a amônia para então ser incorporada a biomassa. Por outro lado quando se avalia o crescimento do microrganismo no efluente da indústria de conservas não observa-se uma fase de adaptação. Isso pode ser atribuído ao fato do nitrogênio amoniacal ser a forma preferencial de nitrogênio pelas cianobactérias (FAY, 1983; RUCKERT & GIANI, 2004; MURO-PASTOR & FLORÊNCIO, 2003). De acordo com QUEIROZ & KOETZ (1998) e BASTOS, PADILHA E BENERI (1999) o

nitrogênio amoniacal no efluente da indústria de conservas encontra-se em concentrações assimiláveis pelas cianobactérias.

A determinação da fase exponencial é expressa pela figura 7, a qual é descrita pela equação $y = 5,232 + 0,0674x$, com coeficiente de correlação de 0,97, onde y é o logaritmo neperiano da concentração celular e x é definido como tempo de cultivo. Este modelo define a fase logarítmica como tendo uma duração de 16h.

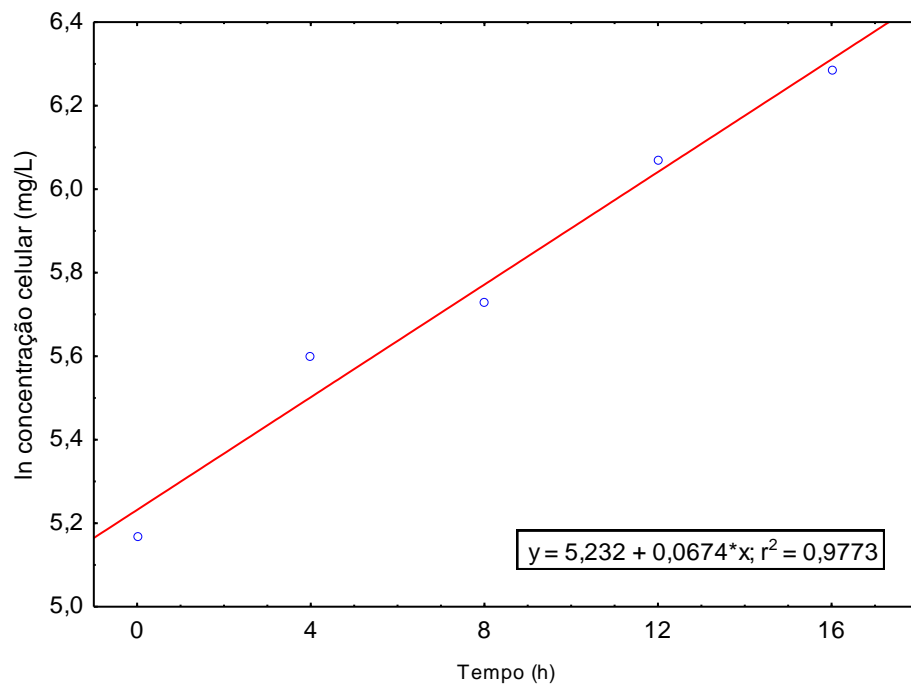


Figura 7 - Determinação da fase exponencial da curva de crescimento da *Aphanothece microscopica* Nægeli cultivada no efluente de conservas

A avaliação da cinética da *Aphanothece microscopica* Nægeli cultivada no efluente da indústria de conservas pode ser avaliada na tabela 7, onde são expressos os parâmetros máxima velocidade de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) e tempo de geração (t_g), calculados com base no tempo de duração da fase log e da concentrações celulares iniciais e finais.

Tabela 7 - Variáveis cinéticas para a *Aphanothece microscopica* Nägeli cultivada no efluente de conserva na fase exponencial.

Variáveis Cinéticas	Valores Obtidos
Δt (h)	16
X (mg.L ⁻¹)	537
X ₀ (mg.L ⁻¹)	176
μ máx (h ⁻¹)	0,0674
tg (h)	10,24

Δt : Intervalo de tempo da fase exponencial de crescimento; X: Concentração celular final; X₀: Concentração celular Inicial; μ máx: Máxima velocidade específica de crescimento; tg: Tempo de geração.

Analisando-se os dados verifica-se que a duplicação celular no efluente de conservas ocorreu a partir das 10,24h com uma máxima velocidade de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) de 0,0674h⁻¹. Bracher (2015) encontrou velocidade específica de crescimento de 0,038h⁻¹ e tempo de geração de 18h no efluente de cortume. Bastos (2002), que apresentou uma máxima velocidade específica de crescimento de 0,038h⁻¹ e um tempo de geração de 18,20h.

5.3 Remoção de nutrientes por *Aphanothece microscopica* Nägeli no efluente de conserva

A produção de biomassa em cultivos heterotróficos ocorre a medida que a matéria orgânica e os nutrientes do efluente são parcialmente convertidos neste bioproduto.

Os resultados obtidos ao final do tratamento por *Aphanothece microscopica* Nägeli são apresentados a seguir, e a eficiência de remoção de nutrientes foi obtida comparando a remoção dos parâmetros analisados no efluente tratado e após tratamento por *Aphanothece*.

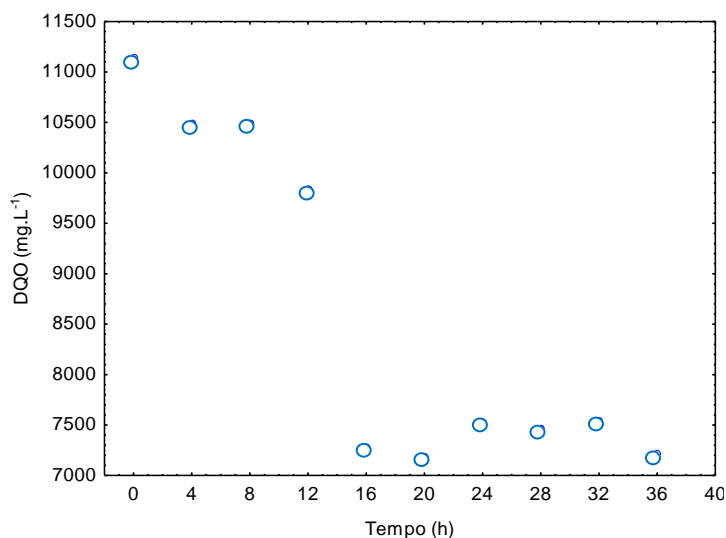


Figura 8 - Variação da concentração de DQO com o tempo no cultivo da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli no efluente da indústria de conservas

A partir do comportamento da curva pode-se observar que o maior desempenho de remoção registrado foi em 16 horas de cultivo, com 36% de remoção e concentração final de DQO de 7180mg.L⁻¹.

Silva et al. (2007) no tratamento do efluente da indústria de conserva com *Aphanothece microscopica* Nägeli apresentou resultados semelhantes de remoção de DQO, 42,2% no efluente de processamento de milho, e 53,7% no de processamento de figo e pêssego, ambos em 24 h, mas inferior aos encontrados por tratamento biológico anaeróbio no mesmo tipo de efluente, como os 86,87 % de eficiência de remoção encontrado por Huber (2007), e 90% encontrados por Trnovec e Britz (1998) em seus experimentos com variações de pH, carga orgânica e tempo de detenção hidráulico. Porém em efluente de conserva de pescado e laticínios a *Aphanothece microscopica* Nägeli registrou eficiências de remoção de 85% (SILVA-MANETTI, 2012). Queiroz et al. (2007), para o efluente de arroz porboilizado registraram valores na ordem de 85% na remoção deste parâmetro quando tratado por *Aphanothece*.

A figura 9 apresenta a variação de N-NTK no efluente da indústria de conservas com o tempo.

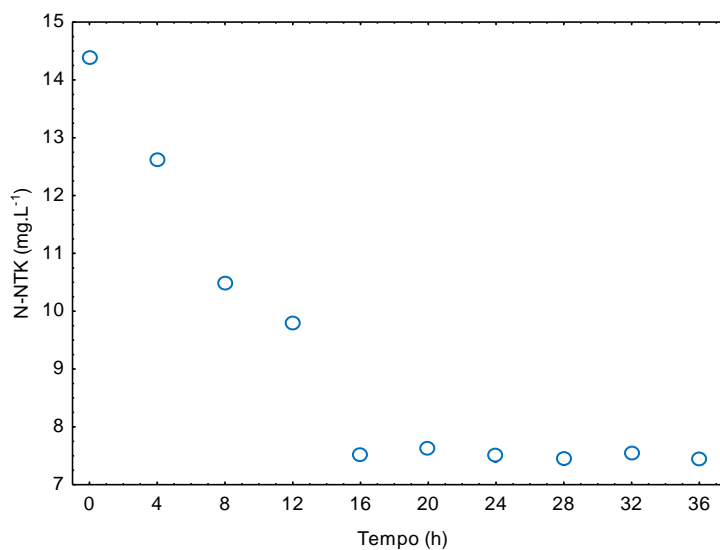


Figura 9 - Variação da concentração de N-N-TK com o tempo no cultivo da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli no efluente da indústria de conservas

A partir da curva pode-se observar que em 16 horas de experimento, foram obtidas eficiências na ordem de 48%. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Queiroz et al., (2008) que estudaram a eficiência de remoção por *Aphanothece* no efluente da indústria de laticínios em diferentes temperaturas de cultivo e observaram que em de 12 horas de experimento, foram obtidas eficiências de 47,2%, 59,3% e 72,8% para os experimentos nas temperaturas de 10°C, 20°C e 30°C. O nitrogênio é um elemento extremamente importante na síntese de proteínas pelas cianbacterias/plantas. Nos efluentes o nitrogênio pode aparecer de diversas formas, desde nitrogênio orgânico, amônia, até formas mais oxidadas como nitrito e nitrato (FAY, 1983), isso pode levar a diferentes eficiências de remoção deste componente por esses micro-organismos.

A remoção de NTK encontrada por Silva et al. (2007) com *Aphanothece microscopica* Nägeli, 58,5% no efluente de milho e 73,2% no efluente de pêssego e figo, superiores ao encontrado nesse experimento. Vale ressaltar que a presença de nitrogênio nestes efluentes era aproximadamente três vezes superior. Ainda com *Aphanothece microscopica* Nägeli, Silva-Manetti (2008) encontrou uma eficiência de remoção de 69,0% no nitrogênio do efluente de pescado e 85,9% de remoção do efluente de laticínio (SILVA-MANETTI, 2012). A cianobactéria também teve uma eficiência de remoção nitrogênio na ordem de 80,0% do efluente de arroz parboilizado (QUEIROZ et al. 2007).

A variação de P-PO_4^{-3} no efluente da indústria de conservas com o tempo de cultivo é apresentada na figura 10.

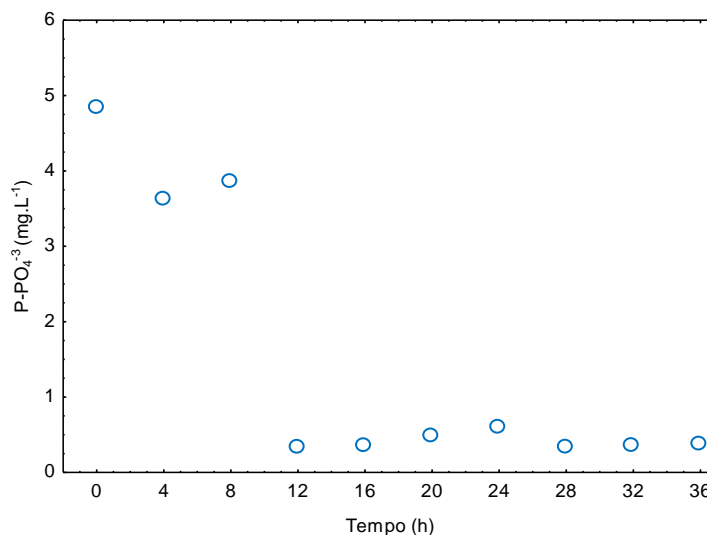


Figura 10 - Variação da concentração de P-PO_4^{-3} com o tempo no cultivo da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli no efluente da indústria de conservas

A curva mostra que houve remoção de até 96% do fósforo presente no efluente. Resultado de extrema importância, uma vez que, a concentração registrada foi em torno de $0,3\text{mg.L}^{-1}$ e a legislação estabelece um máximo de 1mg.L^{-1} (CONSEMA, 2006).

Com relação à remoção de fósforo, *Aphanothece microscopica* Nägeli apresentou melhor desempenho no efluente de conserva de frutas e vegetais que em efluentes de laticínio, 82,4% (SILVA-MANETTI, 2012), conserva de pescado, 83,0% (SILVA-MANETTI, 2008) e semelhante ao encontrado no efluente de curtume, 94,7% (BRÄCHER, 2015). E um valor bem acima de tratamento de efluente de conserva com reator UASB, de 12,5% (SOUSA, 1997). Esta última constatação fica, mais uma vez, evidenciado o potencial de *Aphanothece* de remover compostos de efluentes agroindustriais, frente aos tratamentos convencionais, como o citado.

Os resultados do presente trabalho corroboram com os obtidos por Queiroz et al., (2004), no qual estudaram a remoção de nutrientes do efluente da parboilização do arroz por esta cianobactéria, na ausência de luminosidade, verificando-se remoções de 97,67% de matéria orgânica e 90,37% de nitrogênio em tempo de detenção celular de 15h, inóculos de 300mg.L^{-1} e temperatura de 25°C .

6 Conclusões

A composição físico-química do efluente da indústria de conservas estudado apresentou concentrações, dos parâmetros estudados, típicos destes efluentes.

Nas condições experimentais a análise dos dados cinéticos de crescimento celular e consumo de substrato evidenciaram que o efluente de conservas é um meio de cultivo em potencial para a produção de biomassa microalgácea. Adicionalmente, em função das eficiências de remoção obtidas, este processo pode ser considerado uma alternativa aos convencionais sistemas de despoluição usados em indústrias processadoras de produtos em conservas.

Em termos de dados cinéticos e biorremoção foram registradas densidades celulares máximas, em torno de 537mg.L^{-1} , velocidade máxima específica de crescimento de $0,0674\text{h}^{-1}$, tempo de geração de 10,24h, e eficiências de remoção de DQO de 36%, N-NTK de 48% e P-PO_4^{-3} de 96%.

7 Referências Bibliográficas

- AHMAD, M. N.; HOLLAND, C. R. Growth kinetics of single-cell protein in batch fermenters. **Journal of food engineering**, v. 26, n. 4, p. 443-452, 1995.
- ANAND, N. **Indian freshwater microalgae**. Bishen Singh Mahendra Pal Singh, 1998.
- APHA, **Standart Metodos for Examination of Water and Wastewater**, 20th ed. Washington, 1998.
- BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. Applied enzyme catalysis. **Biochemical engineering fundamentals**, v. 2, p. 157-227, 1986.
- BASTOS, R. G. et al. Remoção de nitrogênio e matéria orgânica do efluente da parboilização do arroz por *Aphanothece microscopica* Nägeli na ausência de luminosidade. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 2, p. 112-116, 2004.
- BASTOS, R. G. **Remoção de matéria orgânica do efluente da parboilização do arroz por *Aphanothece microscopica* Nägeli**. Rio Grande, 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- BASTOS, R. G. et al. Bioconversão do nitrogênio do efluente da parboilização do arroz por incorporação em biomassa da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli. **Revista Ambiente e Água**, v. 5, n. 3, 2010.
- BASTOS, R.G.; BENERI, R.L.; PADILHA, M.E.S. **Avaliação do Cultivo da *Aphanothece microscopica* Nägeli no Efluente da Parboilização do Arroz sob Diferentes Condições de Luminosidade**. Projeto de Graduação em Engenharia de Alimentos. FURG, 1999.
- BERARDINO, S. Di; COSTA, S.; CONVERTI, A. Semi-continuous anaerobic digestion of a food industry wastewater in an anaerobic filter. **Bioresource Technology**. v. 71, p. 261-266, 2000.
- BERTOLA, N.; et al. Optimisation of the design parameters in an activated sludge system for the wastewater treatment of a potato processing plant. **Journal of Food Engineering**. v. 40, p. 27-33, 1999.
- BIDONE, A. R. **Resíduos sólidos provenientes de coletas especiais: eliminação e valorização**. Rio de Janeiro: Rima, ABES, 2001, 240p.
- BONINI, Monica de Albuquerque; BASTOS, Reinaldo Gaspar. Produção de biomassa de *Aphanothece microscopica* e *Chlorella vulgaris* por cultivo heterotrófico a partir de Glicose. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 2, p. 151-160, 2013.
- BRÄCHER, Gustavo Holz. **Avaliação do potencial de aplicação de *Aphanothece microscopica* Nägeli no tratamento de efluente de curtume**. 2015. 70f. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC). Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

CONSEMA - Conselho Estadual do Meio Ambiente. **Resolução nº 128, de 24 de novembro de 2006**. Porto Alegre. 9p. 2006.

CRUEGER, W., CRUEGER, A. **Biotechnologia: Manual de microbiologia industrial**. Zaragoza. Editorial Acribia, Espanha, 1993.

DECKER, Sérgio. **Perfil, desempenho e capacidade tecnológica da agroindústria de doces e conservas da região sul do RS**. Pelotas: EDUCAT, 2006.

EHLERT, Evair. Dados cadeia produtiva do pêssego. **Azonasul – Associação dos Municípios da Zona Sul**. Pelotas, 28 nov. 2015. <<http://www.azonasul.org.br/Noticia/1520/DADOS-CADEIA-PRODUTIVA-DO-PESSEGO>> Acesso em: 12/09/2016

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Interciência/Finep, 1988.

FAY, P. **The blue-greens (Cyanophyta-Cyanobacteria)**. First published in Great Britain. p. 01 - 88, 1983.

FERREIRA, Laura Senna. Setor de conservas da região de Pelotas (RS): mudanças na produção e conservadorismo nas relações de trabalho. **Em Debate**, n. 5, p. 47-63, 2011.

FRANCESCHINI, I. M., BURLIGA, A. L., DE REVIERS, B., PRADO, J. F., & HAMPLAUI, S. **Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica**. Artmed, 2010.

GONZALEZ, J. F. **Wastewater treatment in the fishery industry**. Rome: Fisheries Technical Paper, n. 355, p. 52, 1995.

GONZÁLEZ, L.E.; CAÑIZARES, R.O.; BAENA, S. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. **Bioresource Technology**, v. 60, p. 259 - 262, 1997.

GUERRERO, L.; OMIL, F.; MÉNDEZ, R. Anaerobic hidrolisis and acidogenesis of wastewaters from food industries with high content of organic solids and protein. **Water Research**. v. 33, n. 15, p. 3281-3290, 1999.

HALPERIN, DELLA R.; ZULPA DE CAIRE, G.; ZACCARO DE MULLE, M. C. Contenido Proteico de *Aphanothece stagnina* (Sprengel). A. Braun (Cyanophyta, Chorococcaceae). **Physis sección B**, v. 33, p. 159 - 164, 1974.

HORNES, M.; QUEIROZ, M. I. Evaluation of the growth of cianobacterium *Aphanothece microscopica* Nägeli in effluent of fishing industry. **16 th International Congress of Chemical and Process Engineering**. Prague, 2004.

HUBER, Charles Soares. **Minimização de efluentes e avaliação de sistema biológico de tratamento de águas residuárias em uma indústria de conservas vegetais**. 2007. 59f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Agrícola. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L.Q.; PINTO, L.A.A.; QUEIROZ, M.I. Characteristics of thin-layer drying of the cyanobacterium *Nägeli*. **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, p. 63 - 69, 2007

JANCZUKOWICZ, W.; ZIELINSKI, M.; DEBOWSKI, M. Biodegradability evaluation of dairy effluents originated in selected sections of dairy production. **Bioresource Technology**, 2007.

KOETZ, P. R. **Características físicas, químicas e bioquímicas dos resíduos da agroindústria de conservas vegetais**. Informativo da Embrapa, n.5, p.6-12, jun/jul,1986.

LOPES, D. D.; CAMPOS, J. R. Efeito do N-amoniaco na atividade metanogênica específica durante a degradação de glicose. **SEMINARIO-TALLER LATINOAMERICANO SOBRE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES**, v. 4, p. 19-22.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10 ed São Paulo; Prentice Hall Inc., 608 p. 2004.

MARTÍNEZ, M. E.; SÁNCHEZ, S.; JIMÉNEZ, J. M.; YOUSFI, F. El.; MUÑOZ, L. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 73, p. 263 - 272, 2000.

MEEKS, J. C.; CASTENHOZ, R. W. Growth and photosynthesis in the extreme thermophile, *Synechococcus lividus* (Cyanophyta). **Archives of Microbiology**, v. 78, p. 25 - 71, 1971.

METCALF, I. N. C.; EDDY, H. **Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse**. 1991.

MOHSEN, M.S.; JABER, J.O.. Potential of industrial wastewater reuse. **Desalination**. p. 281, 2002.

MUÑOZ, V. J.; VONTOLINA, D.; NIEVES, M.; PINA, P.; MEDINA, A.; GUERRERO, M. Nitrogen budget in *Scenedesmus obliquus* cultures with artificial wastewater. **Bioresource Technology**, v. 78, p. 161 - 164, 2001.

ORTIZ, C.P.; STEYER, J.P.; BORRERO, A. Carbon and nitrogen removal from wastewater by *Candida utilis*: kinetic aspects and mathematical modeling. **Process Biochemistry** (32), 179–189, 1997.

QUEIROZ, M. I. ; CAVALLET, O. ; ZEPKA, L. Q.; RODRIGUES, A. ; BASTOS, R. Evaluation of Single-cell Protein Production by *Aphanethece microscopica* *Nägeli* in Batch Reactor. In: **11th World Congress of Food Science and Technology**. Seul, Coréia do Sul, 2001.

QUEIROZ, M. I., LOPES, E. J., ZEPKA, L. Q., BASTOS, R. G., & 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.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O.; KOETZ, P.; YUNES, J. S.; SOUSASOARES, L. Avaliação do Teor de Proteínas da *Aphanothece* sp e caracterização em aminoácidos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2, p. 1089 - 1092, 1998.

QUEIROZ, M. I.; ZEPKA, L. I.; GARCIA, M.; JACOB, E. ; VOLPATO, G. Avaliação da remoção de nutrientes e produção de proteína unicelular por *Aphanothece microscopica* Nägeli em função da temperatura. In: **XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Porto Alegre, 2002.

QUEIROZ, M.I. ZEPKA,L.Q.,BASTOSR.G., ALMEIDA.T.L., BENERI.R., ALMEIDA.M.,VOLCAN.R. Remoção de nitrogênio e matéria orgânica do efluente da parbolização do arroz por *Aphanothece microscopica* Nägeli na ausência de luminosidade. *Engenharia Sanitária e Ambiental* .v.9.n.2.p.112-116, 2004.

RIPKA, 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**, London, v. 111, p. 1-61, 1979.

RÜCKERT, G.; GIANI, A. Effect of nitrate and ammonium on the growth and protein concentration of *Microcystis viridis* Lemmermann (Cyanobacteria). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 2, p. 325-331, 2004.

SILVA, A. G. M., HORNES, M. O., MITTERER, M. L., & QUEIROZ, M. I. Application of coagulants in pretreatment of fish wastewater using factorial design.**Desalination and Water Treatment**, v. 1, n. 1-3, p. 208-214, 2009.

SILVA, E. B., ISOLDI, L. A., QUEIROZ, M. I., KOETZ, P. R., & PIEDRAS, S. R. N. Remoção de nutrientes em águas residuárias da indústria de conservas utilizando *Aphanothece microscopica* Nägeli.**VETOR-Revista de Ciências Exatas e Engenharias**, v. 15, n. 1, p. 19-23, 2007.

SILVA-MANETTI, A. G. **Avaliação do potencial de reuso da água industrial oriunda de uma indústria processadora de pescado utilizando *Aphanothece microscopica* Nägeli**. 2008. 85f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

SILVA-MANETTI, A. G. **Produção de Carboidratos a Partir do Efluente de Laticínios Tratado por Cianobactéria**. 2012. 227f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

SOUSA, J. T. D., FORESTI, E., & VAZOLLÉR, R. F. Remoção química de fósforo em processos anaeróbios. In: **Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 19Feira Internacional de Tecnologias de Saneamento Ambiental**, 2-FITABES'97. ABES, 1997.p. 8.

TAVARES, Jacqueline. **A indústria conserveira pelotense: ascensão e declínio**. Pelotas: UCPEL, 2000. (Dissertação de mestrado).

TREVAN, M. D.; BOFFEY, S.; GOULDING, K. H.; et al. **Biotecnologia: Principios biológicos**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1990.

TRNOVEC, W.; BRITZ, T. J. Influence of organic loading rate and hydraulic retention time on the efficiency of a UASB bioreactor treating a canning factory effluent. **Water S. A.**, v. 24, n. 2, p. 147-152, 1998.

VIEIRA, S. M. M. Anaerobic treatment of domestic wastewater in Brazil: research and full-scale experience. **Advanced Water Pollution Control**, n.5, p.185-196, 1988.

VON SPERLING, M. **Princípio do tratamento biológico de águas residuárias: Lodos ativados**, 1997

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.

WHITTON, B. A. **Ecology of Cyanobacteria II**. Springer, New York, 2012.

XING, X. H.; JUN, B. M.; YANAGIDA, M.; TANJI, Y.; UNNO, H. Effect of C/N values on microbial simultaneous removal of carbonaceous and nitrogenous substances in wastewater by single continuous-flow fluidized-bed bioreactor containing porous carrier particles. **Biochemical Engineering Journal**, v. 5, p. 29 - 37, 2000.

XU, H., MIAO, X. & WU, Q. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. **Journal of Biotechnology**, v. 126, p. 499 - 507, 2006.

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.