

# EFEITO DA RAZÃO C/N E DO INÓCULO NA REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA DA PESCA PELA CIANOBACTÉRIA *Aphanothece microscopica Nægeli*

M. O., Hornes<sup>\*</sup>  
M. I., Queiroz<sup>\*\*</sup>

## RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a utilização da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nægeli* como pós-tratamento do efluente oriundo do processamento de pescado. As condições experimentais foram temperatura de 30 °C, ausência de luminosidade e razões C/N de 20 e 60. Os inóculos utilizados nos experimentos foram obtidos a partir de culturas na fase logarítmica desenvolvidas em meio BGN e em meio BGN modificado pela substituição do nitrato de sódio por cloreto de amônio em concentração equivalente em nitrogênio contido no meio padrão (Braun-Grunow Medium – BGN). Utilizou-se um reator de mistura completa com capacidade de 3 l provido de sistema de aeração. Os modelos de remoção de nitrogênio apresentaram coeficientes de correlação significativos para todas as condições analisadas. Os experimentos com inóculos gerados em meio BGN foram considerados as melhores condições avaliadas, apresentando uma redução significativa do parâmetro NTK em menos de 24 h de cultivo e atingindo neste período concentrações inferiores aos limites estabelecidos pela legislação. Os resultados indicam que tanto a razão C/N como o inóculo apresentaram efeito significativo na remoção de nitrogênio do efluente do processamento de pescado pela cianobactéria *Aphanothece microscopica Nægeli*.

**PALAVRAS-CHAVE:** cianobactéria, *Aphanothece microscopica Nægeli*, efluente pescado, pós-tratamento.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the use of the cyanobacterium *Aphanothece microscopica Nægeli* as post-treatment of the effluent originating from fish processing. The experimental conditions were temperature of 30 °C, absence of brightness and ratio C/N of 20 and 60. The inocula used in the experiments were obtained from cultures in the logarithmic phase developed in medium BGN and in BGN medium modified by the substitution of the nitrate of sodium by chloride of ammonium in equivalent

---

<sup>\*</sup> Engenheiro de Alimentos. Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos-FURG; [mohornes@yahoo.com.br](mailto:mohornes@yahoo.com.br)

<sup>\*\*</sup> Professora do Dep. de Química. Orientadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos-FURG; [mariaisabel.queiroz@mailcity.com.br](mailto:mariaisabel.queiroz@mailcity.com.br)

concentration in nitrogen contained in the standard medium (Braun-Grunow Medium – BGN). It was used a reactor for full mixture with capacity of 3 l provided with aeration system. The models of removal of nitrogen presented significant correlation coefficients for all the analyzed conditions. The experiments with inocula generated in medium BGN presented the best conditions assessed, showing a significant reduction of the parameter NTK in less than 24 h of cultivation and reaching in this period lower concentrations to the established limits for the legislation. The results indicate that as much reason C/N as inoculum had presented significant effect in the nitrogen removal of the fish processing effluent by cyanobacterium *Aphanothece microscopica Nægeli*.

**KEY WORDS:** cyanobacterium, *Aphanothece microscopica Nægeli*, fishing effluent, post-treatment.

## 1 – INTRODUÇÃO

A indústria da pesca se caracteriza por gerar grande quantidade de efluente que apresenta uma alta carga de compostos nitrogenados, matéria orgânica e sólidos suspensos totais, os quais, na maioria das vezes, são diretamente lançados no meio ambiente, causando o envelhecimento precoce dos corpos de água receptores (6, 8).

As plantas de remoção de nitrogênio convencionais são baseadas na combinação de nitrificação, em que ocorre a oxidação aeróbia de amônia a nitrato, e desnitrificação, em que há a conversão anóxica de nitrato a gás nitrogênio. Em termos de configuração de reatores, isso implica a separação espacial e temporal em duas fases (9, 16).

A concentração de nutrientes inorgânicos, que pode ser expressa como razão C/N e N/P, é fator que influi no crescimento das cianobactérias (7). A importância deste parâmetro no desenvolvimento de microorganismos é comprovada por CARRERA et al. (5), que verificaram a diminuição da taxa de nitrificação com o aumento da razão C/N.

A alta concentração de amônia formada a partir da hidrólise protéica na digestão anaeróbica é uma limitação no emprego das cianobactérias nos processos de tratamento secundário (15). O estudo sobre a adaptação de culturas em meio contendo concentração elevada de nitrogênio amoniacal no aumento da eficiência de remoção de nitrogênio no efluente industrial é importante, uma vez que essa etapa pode tornar os microorganismos menos sensíveis ao aumento de nitrogênio amoniacal total (11, 15).

A Fundação Universidade Federal do Rio Grande vem estudando a utilização da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nægeli* no tratamento de efluente da parboilização do arroz, tendo demonstrado

seu potencial quanto à remoção de nitrogênio e matéria orgânica para esta água residuária (12, 13, 14). Por outro lado, em relação ao comportamento deste microorganismo no efluente da indústria processadora do pescado, ainda não se tem qualquer informação. O trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da razão C/N e do inóculo na remoção de nitrogênio do efluente da indústria da pesca pela cianobactéria *Aphanothece microscopica Nægeli*.

## 2 – DESENVOLVIMENTO

### 2.1 – Material e métodos

#### 2.1.1 – Microorganismo

O microorganismo utilizado foi a cianobactéria *Aphanothece microscopica Nægeli* na fase exponencial de crescimento, cultivada no meio BGN (Braun – Grunow Medium) a 25°C, pH ajustado a 7,6 sob aeração constante de 1 VVM e fotoperíodo de 12 h a 2 000 lux (12) e no meio BGN modificado pela substituição parcial de nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>) contido neste meio por cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl), na concentração de 70 mg/l.

O meio BGN é composto por: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O (0,04 g/l), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,075 g/l), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,15 g/l), NaNO<sub>3</sub> (0,15 g/l), EDTA (0,001 g/l), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (2,86 g/l), MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O (1,81 g/l), ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,222 g/l), Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O (0,39 g/l), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,079 g/l), CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (0,040 g/l), ácido cítrico (0,006 g/l) e citrato de amônio férrico (0,006 g/l) (10).

#### 2.1.2 – Condições Experimentais

O efluente da indústria processadora de pescado empregado nos experimentos foi proveniente do tratamento secundário de um reator anaeróbio piloto de mistura completa de 80 cm de altura e 10 cm de diâmetro com volume útil de 5 l, constituído de PVC e tendo na sua parte superior acoplada um motor dotado de uma haste metálica. O volume de efluente utilizado foi de três litros com pH ajustado a 7,6. A razão C/N aferida para 20 ou 60 foi realizada com glicose em função das concentrações de NTK. Foram utilizados inóculos em torno de 200 mg/l na fase exponencial do microorganismo desenvolvido em meio BGN e meio BGN modificado. Essas condições resultaram em quatro experimentos que foram realizados com réplica.

As condições de temperatura e luminosidade foram 30 °C e ausência de luz.

O reator aeróbio de mistura completa utilizado para os experimentos constituiu-se de uma extensão cilíndrica de PVC com

dimensões de 80 cm de altura e 10 cm de diâmetro. Na sua porção inferior foram feitos três orifícios para a entrada de ar, promovendo assim aeração e agitação do meio e, no topo do reator, foi utilizada uma cobertura para não permitir a entrada de luz.

### 2.1.3 – Incubação

O período de incubação foi de 72 h. A determinação de NTK foi realizada segundo metodologia proposta pelo Standard Methods (1).

### 2.1.4 – Análise cinética de crescimento

Para o cálculo das variáveis cinéticas foi utilizado o modelo de Contois, conforme indicado por BELTRAN-HEREDIA et al. (3). A taxa específica de remoção de substrato foi calculada segundo a Equação 1, obtendo-se um modelo linear através do gráfico  $1/q$  vs  $X/S$  (Equação 2), tendo como intersecção  $1/q_{\text{máx}}$  e declividade  $K_C/q_{\text{máx}}$ .

$$q = q_{\text{máx}} \frac{S}{K_C X + S} \quad (1)$$

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_{\text{máx}}} + \frac{K_C \cdot X}{q_{\text{máx}} \cdot S} \quad (2)$$

Onde:  $X$  = concentração da biomassa (mg/l)

$S$  = concentração do substrato (mg/l)

$K_C$  = constante de saturação de Contois ( $\text{h}^{-1}$ )

$q$  = taxa específica de consumo de substrato (mg S/mg biomassa.h)

### 2.1.5 – Avaliação estatística

Os resultados foram tratados estatisticamente por Análise de Variância e diferenças de média segundo o teste de comparação de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Todos os cálculos estatísticos foram realizados através do software Statistic 5.0.

## 2.2 – Resultados e discussão

### 2.2.1 – Remoção de nitrogênio total Kjeldahl

A Figura 1 apresenta o consumo de NTK do efluente do processamento de pescado para inóculos desenvolvidos em meio BGN e BGN modificado nas condições experimentais. Os experimentos

utilizando inóculos oriundos do meio BGN apresentaram concentrações finais de NTK inferiores aos ensaios com inóculos desenvolvidos em meio BGN modificado, atingindo máxima eficiência de remoção (92,7%) em 48 h para a razão C/N 60 (Tabela 3). O resultado expressa o potencial da cianobactéria para a remoção de nitrogênio também neste efluente, considerando que BASTOS *et al.* (2), utilizando a cianobactéria *Aphanothece microscopica Nægeli* no efluente da parboilização do arroz em condições similares de luz, temperatura e concentração de inóculo, obtiveram remoção de 79,4 % em 21 h de cultivo.

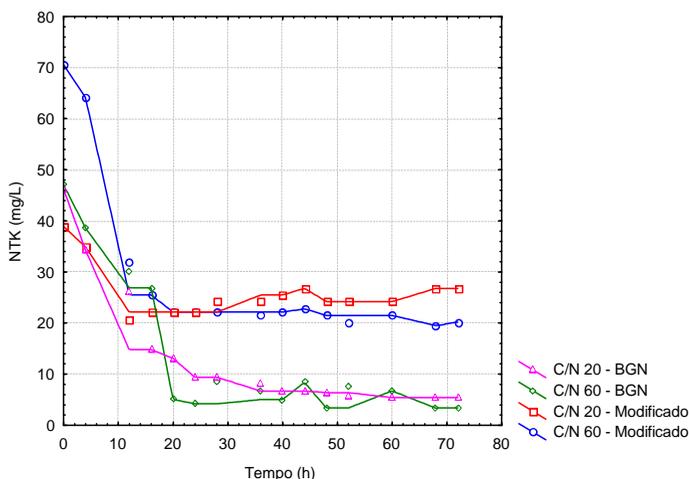


FIGURA 1 – Remoção de NTK do efluente do processamento de pescado]

Através da análise da Tabela 1 é possível verificar que todos os efeitos influenciaram significativamente na remoção de NTK, porém o efeito do inóculo se destacou sobre a razão C/N. A diferença pode ser visualizada na Figura 2, o que sugere o uso de inóculo sem adaptação ao meio amoniacal para a remoção destes componentes.

TABELA 1 – Resumo dos efeitos dos fatores para as variáveis  $E_{NTK}$

Efeito	F	$E_{NTK}$	p
Inóculo	1389,861		0,000003
Razão C/N	300,3645		0,000065
Meio x Razão C/N	146,252		0,000268

\*diferenças significativas ( $p < 0,05$ ); F: estatística de Snedecor; p: probabilidade

\* $E_{NTK}$ : eficiência de remoção de nitrogênio total

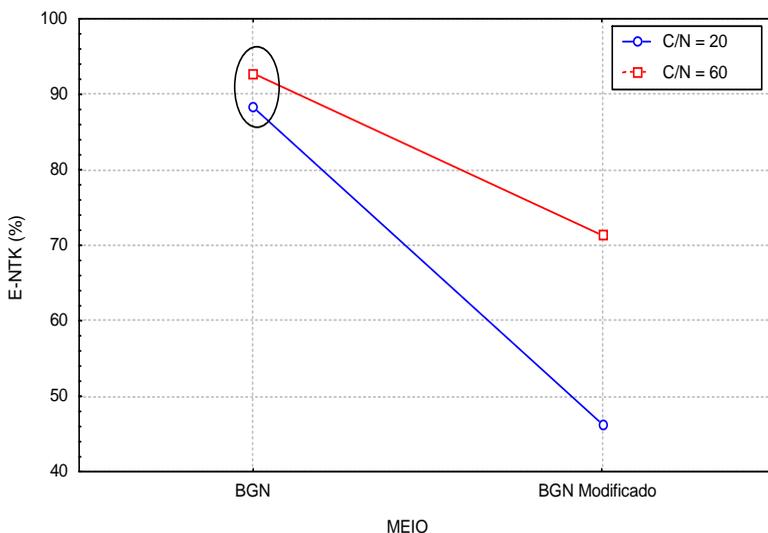


FIGURA 2 – Variação da remoção de NTK em função dos fatores culturais e razão C/N

A Tabela 2 mostra os modelos para a remoção de NTK no efluente do processamento de pescado. As correlações apresentadas confirmam a viabilidade dos modelos propostos para a remoção de NTK no efluente do processamento de pescado.

TABELA 2 – Modelos de remoção de NTK no efluente do processamento de pescado

Inóculos	Razão C/N	Modelo	r	VE
BGN	20	$NTK = 45,8 - 2,7.T + 0,072.T^2 - 0,00085.T^3 + 0,000004.T^4$	0,99	98,5
BGN	60	$NTK = 47,8 - 2,0.T + 0,006.T^2 + 0,00076.T^3 - 0,000008.T^4$	0,96	91,7
BGN modificado	20	$NTK = 40,2 - 2,4.T + 0,113.T^2 - 0,00198.T^3 + 0,000012.T^4$	0,96	92,3
BGN modificado	60	$NTK = 74,6 - 5,2.T + 0,176.T^2 - 0,00251.T^3 + 0,000013.T^4$	0,98	97,5

\*r: coeficiente de correlação; VE: variância explicada

Embora as máximas remoções de NTK tenham ocorrido em 60 h e 48 h (Tabela 3), quando o cultivo se desenvolve a partir de inóculo gerado em meio BGN em efluente com razão C/N 20 e 60, respectivamente, em ambos, o padrão de emissão previsto na legislação vigente (até 10 mg/l) foi atingido em apenas 24 h (Figura 1). As menores taxas de remoção de NTK foram observadas para os experimentos utilizando inóculos desenvolvidos em meio BGN modificado, o que é comprovado pelos dados apresentados na Tabela 3 (4).

TABELA 3 – Máximas eficiências de remoção para os parâmetros NTK

Inóculos	Razão C/N	E <sub>NTK</sub> (%)	q <sub>máx</sub>	K <sub>C</sub>
BGN	20	88,3 (60h)	-0,00046	-0,0411
BGN	60	92,7 (48h)	-0,00071	0,0120
BGN modificado	20	47,3 (12h)	-0,00019	-0,0834
BGN modificado	60	71,4 (52h)	-0,000026	-0,0097

\*E<sub>NTK</sub>: eficiência de remoção de nitrogênio total; q<sub>máx</sub>: taxa máxima de remoção de substrato (mg S/mg biomassa.h);  
K<sub>C</sub>: constante de saturação (h<sup>-1</sup>)

### 3 – CONCLUSÃO

Os resultados indicam que tanto a razão C/N como o inóculo apresentaram efeito significativo na remoção de nitrogênio do efluente do processamento de pescado pela cianobactéria *Aphanothece microscopica Nágeli*.

Os modelos de remoção de nitrogênio total Kjeldahl apresentaram expressivos coeficientes de correlação para todas as condições analisadas.

Os experimentos com inóculos gerados em meio BGN foram considerados as melhores condições avaliadas, apresentando uma redução significativa do parâmetro NTK em menos de 24 h de cultivo e atingindo concentrações inferiores aos limites estabelecidos pela legislação.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 APHA – American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20.<sup>a</sup> ed. Washington. 1998.
- 2 BASTOS, R. G.; ZEPKA, L. Q.; VOLPATO, G.; *et al.* **Aplicação da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nágeli* no tratamento de efluentes e na produção de proteína unicelular**. Rio Grande, 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2002.
- 3 BELTRAN-HEREDIA, J.; TORREGROSA, J.; DOMINGUEZ, J. R.; *et al.* Aerobic biological treatment of black table olive washing wastewaters: effect of an ozonation stage. **Process Biochemistry**. v. 35, p. 1183-1190, 2000.
- 4 BRASIL. Lei Federal n.º 9.077, Portaria n.º 05/89, Norma Técnica n.º 01/89 da Secretaria da Saúde e Meio Ambiente, 4 de jun. de 1990.
- 5 CARRERA, J.; VICENT, T.; LAFUENTE, J. Effect of influent COD/N ratio on biological nitrogen removal (BNR) from high-strength ammonium industrial wastewater. **Process Biochemistry**. v. 39, n. 12, p. 2035-2041, 2004.
- 6 CONTRERAS, E. M.; GIANNUZZI, L.; ZARITZKY, N. E. Growth kinetics of the filamentous microorganism *Sphaerotilus natans* in a model system of a food industry wastewater. **Water Research**. v. 34, n. 18, p. 4455-4463, 2000.

- 7 CRAGGS, R. J.; McAULEY, P. J.; SMITH, V. J. Wastewater nutrient removal by marine microalgae grown on a corrugated raceway. **Water Research**. v. 31, n. 7, p. 1701-1707, 1997.
- 8 GUERRERO, L.; OMIL, F.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Treatment of saline wastewaters from fish meal factories in an anaerobic filter under extreme ammonia concentrations. **Bioresource Technology**. v. 61, p. 69-78, 1997.
- 9 PATUREAU, D.; HELLOIN, E.; RUSTRIAN, E.; BOUCHEZ, T.; DELGENES, J. P.; MOLETTA, R. Combined phosphate and nitrogen removal in a sequencing batch reactor using the aerobic denitrifier, *Microvirgula aerodenitrificans*. **Water Research**. v. 35, n. 1, p. 189-197, 2001.
- 10 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**. Great Britain. n. 111, p. 1-61, 1979.
- 11 RUIZ, G.; JEISON, D.; CHAMY, R. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. **Water Research**. v. 37, p. 1371-1377, 2003.
- 12 QUEIROZ, M. I.; KOETZ, P. R.; TREPTOW, R. O. The Nageli microscopical Aphanothece potential in the production of the single-cell protein from the remaining water. In: CHAMES, S. W.; CÁNOVAS-BARBOSA, G. V.; AGUILERA, J. M. (Ed.) **Proceedings of the Eighth International Congress on Engineering and Food (ICEF 8)**. Pennsylvania, USA, 2027-2031, 2001.
- 13 QUEIROZ, M. I.; BASTOS, R. G.; BENERI, R. L.; ALMEIDA, R. G. Evaluación del crecimiento de la *Aphanothece microscopica Nágeli* en las aguas residuales de la parbolización del arroz. **Informacion Tecnologica**. La Serena. v. 13, n. 1, p. 61-66, 2002.
- 14 QUEIROZ, M. I.; ZEPKA, L. Q.; LOPES, E. J.; BASTOS, R. Evaluation of single cell protein production by *Aphanothece microscopica Nágeli* in batch reactor. **Food Science and Biotechnology**. v. 13, n. 1, p. 130-141, 2004.
- 15 SUNG, S.; LIU, T. Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion. **Chemosphere**. v. 53, p. 43-52, 2003.
- 16 TSAI, M. W.; WNTZEL, M. C.; EKAMA, G. A. The effect of residual ammonia concentration under aerobic conditions on the growth of *Microthrix parvicella* in biological nutrient removal plants. **Water Research**. v. 37, p. 3009-3015, 2003.