

REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DA INDÚSTRIA DE ARROZ PARBOILIZADO POR INCORPORAÇÃO EM BIOMASSA CELULAR de *Candida utilis* - IZ-1840

RODRIGUES, Rosangela S. & KOETZ, Paulo R.

UFPEL/FAEM/Dept^o de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - Caixa Postal 354 - CEP 96010 - 900
Tel. (0532) 757258 - Pelotas/RS
(Recebido para publicação em 30/04/96)

RESUMO

Avaliou-se o potencial de remoção de nitrogênio pela levedura *Candida utilis* IZ-1840, em efluente da indústria de parboilização de arroz, utilizando-se o líquido do tanque de maceração, e os efluentes da alimentação e descarga de um reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) por fermentação em "shaker" rotativo. As amostras fermentadas por 72 horas, foram centrifugadas e analisadas quanto aos teores de NTK, NH₃ e pH no sobrenadante e a quantidade de biomassa por gravimetria. Análises de acidez volátil e alcalinidade foram realizadas, somente na descarga do reator, com 10% de inóculo inicial, durante intervalos consecutivos de 24h. A absorção de nitrogênio amoniacal e total pela levedura teve maior velocidade no efluente do tanque de maceração, proporcionando um menor tempo de detenção para o fermentador. A melhor eficiência de remoção de nitrogênio da levedura foi de 68,9%, obtida no efluente da descarga do reator com 10% de inóculo inicial.

Palavras-chave: Efluente, remoção nitrogênio, fermentação, levedura, *Candida utilis*.

ABSTRACT

NITROGEN REMOTION IN EFFLUENT OF PARBOILLED RICE INDUSTRY BY FERMENTATION WITH *C. Utilis* IZ-1840 YEAST. The potencial removing of nitrogen by *C. utilis* IZ-1840 yeast was evaluated in effluent from macerating tank of rice factory and in effluent from rice UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) reactor at admission and discharge, by fermentation on a rotary shaker. After centrifugation of fermented samples (72 hour) NTK, NH₃ and pH values slurries were performed and the amount of biomass was evaluated by using gravimetric method. Volatile acidity and alkalinity and Chemical Oxygen Demand analysis were achieved only for reactor discharge with 10% initial inoculum at consecutive intervals of 24 hours. The fastest absorption of nitrogen ammoniacal and total were obtained in a macerating tank effluent. The highest efficiency of nitrogen removing by yeast action was

obtained in a discharge reactor effluent with initial inoculum 10% vol/vol and it was 68,9%.

Key words: Effluent, Nitrogen removing, fermentation, levedure, *Candida utilis*

INTRODUÇÃO

O processamento do arroz parboilizado gera na indústria um efluente rico em matéria orgânica proveniente da água de maceração e do tratamento hidrotérmico a que este é submetido.

O controle de poluição agroindustrial, pelo processo de digestão anaeróbia, é executado para eliminação da matéria carbonada, mas por outro lado, sua eficiência quanto à matéria nitrogenada é muito limitada (BORIES, 1992). A tecnologia de eliminação dos compostos de carbono é de fácil execução, enquanto que a emissão de compostos nitrogenados é de difícil controle. Estas últimas podem ser da ordem de 600.g.m³N-NTK por m³ de água residuária e dividem-se em cinco categorias: amônia livre, amônia albuminóide, nitrogênio orgânico, nitrito e nitrato segundo GONÇALVES *apud* MAHIDA (1981).

As diferentes formas de nitrogênio são provenientes da metabolização realizada por microorganismos com diferentes exigências de fontes nitrogenadas. A síntese final dos compostos nitrogenados tem seu ponto culminante nas moléculas protéicas e a degradação destas moléculas pela hidrólise enzimática, denominada proteólise, é realizada por enzimas presentes na célula microbiana. As exoenzimas microbianas elaboram proteinases extracelulares, convertendo as proteínas em peptídeos, que são então hidrolisados por peptinases liberando finalmente aminoácidos isolados. A reação de desaminação dos aminoácidos tem geralmente como produto final a amônia. A oxidação da amônia a nitrato, pode ser realizada por organismos autotróficos específicos e heterotróficos. Alguns destes microorganismos são capazes de converter os nitratos em nitrogênio gasoso no processo denominado

denitrificação como o *Thiobacillus denitrificans*, *Micococcus denitrificans* e espécies do gênero *Serratia*, *Pseudomonas* e *Achromobacter*, enquanto que a fixação do nitrogênio gasoso é realizada por microorganismos que utilizam o nitrogênio molecular como fonte nitrogenada, STANIER, R.Y. *et al.* (1976).

De acordo com MOLETTA *et al.* (1994), os métodos biológicos convencionais de remoção de nitrogênio envolvem nitrificação em processos aeróbios com conversão de amônia para nitrato e nitrito. que são convertidos posteriormente em nitrogênio molecular no processo denominado denitrificação.

MOLETTA *apud* TIEDJE (1994), cita que os microorganismos que atuam no processo de denitrificação são basicamente bactérias aeróbias que tem a capacidade alternativa de reduzir nitrogênio oxidado, quando o oxigênio é limitante no meio, sendo este um dos métodos utilizados na sua remoção de efluentes agroindustriais. Entretanto, WILDERER, (1990), esclarece que o processo de nitrificação/denitrificação apresenta o inconveniente de ser um processo exclusivamente de mutualismo, onde a nitrificação de amônia para nitrito e nitrato requer altas taxas de oxigênio dissolvido, enquanto que a denitrificação desses íons, até nitrogênio molecular, somente ocorre em condições anaeróbias.

NUNES *et al.* (1995), observou que o processo de digestão anaeróbia conduz à hidrólise das proteínas produzindo aminoácidos que liberam, entre outros produtos, algumas substâncias de mau odor como mercaptanas, amins, fenol, sulfeto de hidrogênio, gás amônia, ácidos orgânicos, álcoois e finalmente o dióxido de carbono e metano, sendo o valor médio de nitrogênio amoniacal no sistema de tratamento de efluente por digestão anaeróbia foi de 167,0 mg.L⁻¹ Estes componentes moleculares estão desdobrados e são prontamente assimiláveis por microorganismos.

HENRRY *et al.* (1978), relata que utilizou *Candida ingens* com vistas à produção de SCP (Single Cell Protein) em resíduo fermentado de suíno e fluído de rúmen utilizando ácidos graxos voláteis de cadeia curta como fonte de carbono e amônia como fonte de nitrogênio, onde constatou que a fermentação "in vitro" de pastagem também constitui um meio adequado ao crescimento da levedura.

BORIES, (1992), estudou a levedura *Candida ingens* com o objetivo de proceder a despoluição carbonada e nitrogenada através da associação de uma fermentação anaeróbia por bactérias acidogênicas, para utilização da matéria orgânica, ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal como meio de cultura para a levedura com objetivo de remoção de nitrogênio amoniacal e formação de biomassa valorizável.

A avaliação das potencialidades de remoção de nitrogênio por *Candida utilis* IZ-1840 em diferentes estágios de tratamento do efluente e ao longo do tempo de fermentação foi avaliada através do estudo da assimilação do substrato utilizado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cultura

O estudo foi realizado com a levedura *Candida utilis* IZ-1840, cultura da coleção do Instituto Zimotécnico da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo (Piracicaba - SP), gentilmente cedido pelo Dpto. Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da USP.

A conservação da cultura foi feita utilizando-se o meio preparado de acordo com a composição do meio "Yeast Morphology Agar"(YM) (DIFCO LABORATORIES,1984).

A manutenção da cultura foi efetuada em repiques (Yeast Morphology Agar) segundo intervalos de 2 a 3 meses e a incubação realizada a (30±1)°C durante 3 dias, sendo posteriormente mantida sob refrigeração de 4 a 7°C.(TRÍBOLI *apud* KIRSOP,1984). O meio foi dividido em tubos de ensaio com 18 x 180mm em porções de 10mL, sendo então esterilizado a 121°C durante 15 minutos (PELCZAR *et al.*,1969).

A levedura foi adaptada previamente utilizando todos os nutrientes do meio "Yeast Morphology Agar" com excessão do ágar e efetuando a substituição da água destilada por efluente.

O meio de fermentação é composto por: K₂HPO₄: 49g.L⁻¹; KH₂PO₄: 0,49g.L⁻¹; MgCl₂.6H₂O: 2,54g.L⁻¹; Na₂SO₄: 1,63g.L⁻¹; ZnSO₄.7H₂O:7mg.L⁻¹; ác. cítrico mono - hidratado: 0,21g.L⁻¹; Biotina: 4µg.L⁻¹. O cloreto de magnésio e a biotina, foram esterilizados à parte por autoclavagem e filtração respectivamente, e adicionados separadamente ao meio de cultura.

Amostras

Foram obtidas amostras de efluente junto à alimentação (EA), descarga (ED) de um reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) e do tanque de maceração (TM) destinado ao tratamento hidrotérmico do arroz pelo processo de parboilização.

Todas as amostras foram submetidas a filtração e adição de solução nutritiva, para fermentação em "shaker" rotativo durante o período de 72 horas e as análises físico-químicas foram realizadas em intervalos consecutivos de 24 horas. As análises físico-químicas

foram realizadas após a centrifugação e filtração das amostras em membrana Milipore.

Os parâmetros relativos ao processo fermentativo foram fixados e mantidas constantes para os diferentes experimentos: temperatura (30°C), agitação (250rpm), inóculo (5 e 10%) enquanto que o pH foi monitorado durante o experimento. As amostras foram subdivididas em erlenmeyers de 250mL com 100mL de volume útil para proporcionar maior superfície livre e aeração do líquido.

O nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl. O nitrogênio amoniacal foi determinado pelo método volumétrico após a destilação da amônia em aparelho de destilação de nitrogênio. O pH foi determinado em pH-metro de marca Micronal modelo B-374. A DQO expressa a medida de oxigênio equivalente à porção de matéria orgânica capaz de ser oxidada por um agente oxidante forte como o dicromato de potássio (TEIXEIRA, 1974), e foi realizada por aquecimento sobre refluxo. A acidez volátil foi medida por titulometria de neutralização em potenciômetro Micronal pH - metro B 374. As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com o "Standard Methods of the Examination the Water and Wastewater".

A concentração celular foi medida utilizando-se gravimetria, por filtração em membrana Milipore, secagem até peso constante e pesagem em balança analítica.

Cálculo da eficiência de remoção das cargas orgânicas:

$$E_{(DQO,NTK,NH_3)} = \left(1 - \frac{C_f}{C_o}\right) \times 100$$

$E_{(DQO,NTK,NH_3)}$: eficiência de remoção das cargas orgânicas;

C_o : concentração inicial;

C_f : concentração final.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O efluente do tanque de maceração(EM) apresentou uma curva de consumo de nitrogênio que permite obter um fermentador com menor tempo de detenção (Figura1). Há diferença significativa entre este

tratamento e o da descarga do reator ao nível ($P < 0,05$) no ápice do processo fermentativo. A curva de consumo de nitrogênio, no efluente da descarga do reator, apresentou uma diminuição constante representada por uma equação linear, enquanto que no tanque de maceração e no da alimentação houve morte de microorganismos e liberação de nitrogênio, que retorna para o meio (Figura1). RAMAKRISHNA *et al.*(1989), utilizando efluente da indústria de mandioca, também determinou o máximo consumo de substrato após 24 horas da inoculação com *C. tropicalis*, tendo encontrado menos de $0,3g.L^{-1}$ de biomassa final, o que determinou o comportamento da levedura para os efluentes de origem amilácea. No entanto o crescimento da biomassa foi bem maior que o encontrado por este autor devido a pouca disponibilidade de fontes nitrogenadas utilizadas no meio.

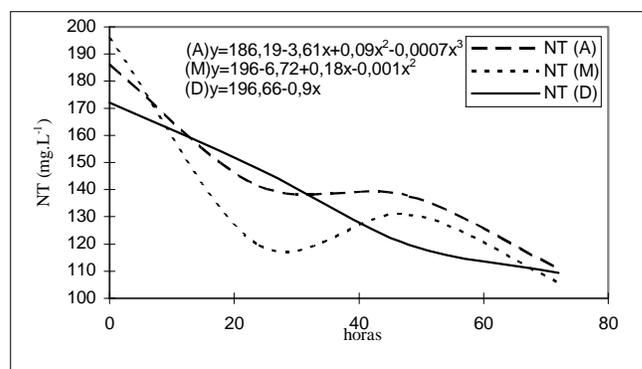


Figura 1. Nitrogênio Total para fermentação com *Candida utilis* IZ-1840 em efluente do tanque de maceração, alimentação e descarga do reator(1):

(1):Reator UASB

NT: Nitrogênio Total;

(A):Alimentação;

(M):Tanque de Maceração

(D):Descarga

A absorção de nitrogênio amoniacal pela levedura evidencia o comportamento citado por BORIES *et al.*(1992). O teor de nitrogênio amoniacal final nos três tratamentos não apresentou diferença (Figura 2) (Tabela 1), porém a carga nitrogenada no ED é muito superior aos outros tratamentos propiciando um percentual de absorção de valores mais elevados (Figura3).

TABELA 1-Equação de regressão polinomial para o consumo de NH_3 por *Candida utilis* IZ-1840:

Tratamento	Equação de Regressão Polinomial	Coefficiente de Determinação
Alimentação	$NH_3 = 29,32 - 0,91t + 0,0083t^2$	0,94
Descarga	$NH_3 = 88,51 - 5,58t + 0,13t^2 - 0,0009t^3$	1,0
Tanque de Maceração	$NH_3 = 14,79 - 0,13t$	0,93

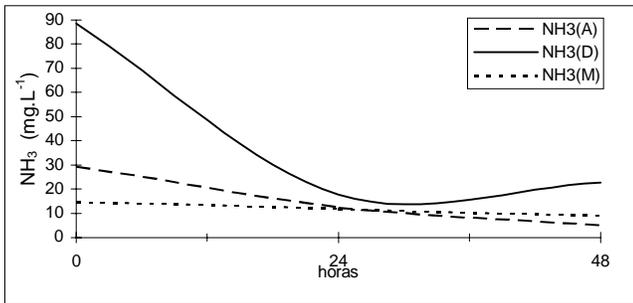


Figura 2. Valores de NH₃ em fermentação com *Candida utilis* IZ-1840 nos efluentes do Tanque de Maceração Alimentação e Descarga do reator(1) (1): Reator UASB
NH₃:Nitrogênio Amoniacal
(A):Alimentação
(D): Descarga
(M):Tanque Maceração

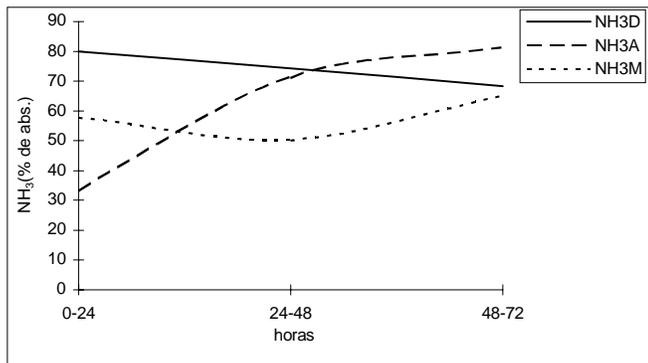


Figura 3. Porcentagem de absorção de NH₃ por *Candida utilis* IZ-1840 nos efluentes do Tanque de Maceração, Alimentação e Descarga do reator(1): (1):Reator UASB
A:Alimentação
M: Tanque de Maceração
D: Descarga
NH₃: Nitrogênio Amoniacal

A absorção de nitrogênio amoniacal no ED teve um comportamento similar ao observado por BORIES *et al.* (1992). O nitrogênio amoniacal presente no substrato é facilmente assimilável devido ao fato de que os maiores intermediários da digestão anaeróbia são, de uma parte, os ácidos orgânicos de cadeia curta (ác. acético, propiônico, butírico) e de outra parte o nitrogênio amoniacal formado no curso da fase de hidrólise e acidogênese, que representam ambos, substratos prontamente assimiláveis em aerobiose por microorganismos, principalmente leveduras, realizando sua conversão em biomassa microbiana.

O nível de absorção de nitrogênio total foi consideravelmente maior e mais rápido pela adição de 10% de inóculo inicial, considerando que com 5% foi de 38% em 72horas de fermentação e no caso anterior foi

de 68,9% em 24 horas (Figura 4). A adaptação da levedura ao meio de cultivo foi semelhante nos dois tratamentos com a fase exponencial no período de 24 horas de fermentação. A maior absorção de nitrogênio em espaço de tempo mais curto se deu em vista de que a população microbiana é consideravelmente maior desde o início do processo no segundo caso.

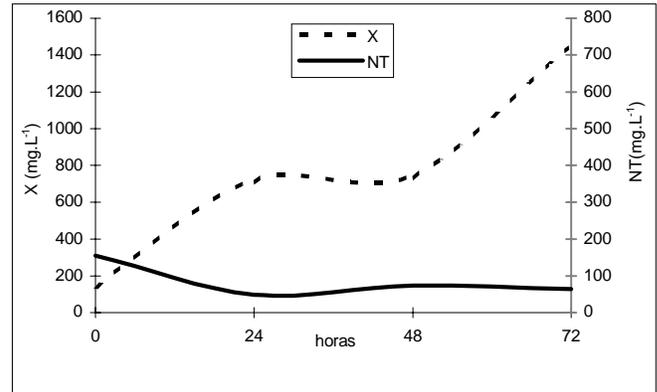


Figura 4. Crescimento de *Candida utilis* IZ-1840 em efluente da descarga do reator(1) com 10% de inóculo inicial e consumo de Nitrogênio Total (1):Reator UASB
X: Produção de Biomassa
NT: Nitrogênio Total

A figura 5 mostra o consumo de ácidos voláteis de cadeia curta que atingiu 92% após 72 horas de fermentação. Os resultados foram semelhantes aos obtidos por BORIES *et al.*(1992), sendo que para *Candida ingens* com concentrações de 1 a 10g.L⁻¹ o maior tempo de consumo foi de 160 horas e com concentrações em torno de 1g.L⁻¹ o consumo total se deu em 40 horas o que confirma o que é citado por ANCIAUX,C.M. *apud* HENRY *et al.*(1976), se caracterizando a levedura por um metabolismo oxidativo devido a enzimas glicoxílicas o que faz que para o crescimento somente utilizem ác. graxos voláteis como fonte de carbono.

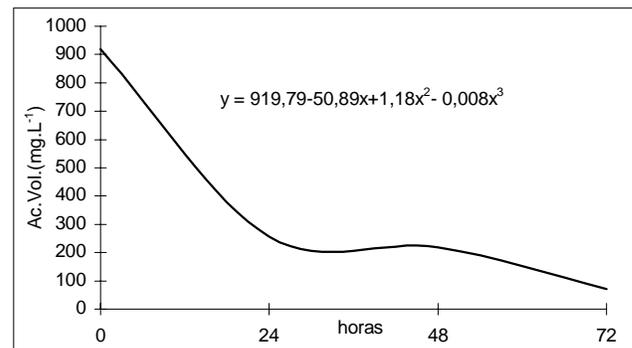


Figura 5. Consumo de ácidos voláteis por *Candida utilis* IZ-1840 em efluente da descarga do reator(1) (1): Reator UASB

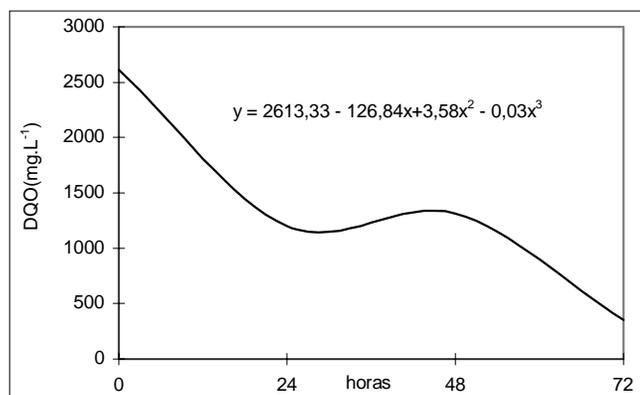


Figura 6. Redução da DQO após fermentação com *Candida utilis* IZ- 1840 em efluente da descarga do reator(1)
(1) Reator: UASB

A DQO do efluente sofreu uma redução significativa ao longo do tempo de fermentação indicando um alto consumo de matéria orgânica pela levedura, conforme pode - se observar na Figura 6.

RAMAKRISHNA & JAMUNA, 1989, obtiveram em 24 horas de fermentação: 50% (*C. tropicalis*); 62% (*Saccharomyces sp.*); 6% (*Torulopsis wickerham*); 16% (*S. occidentalis*); 5% (*E. fibuliger*), enquanto que com *Candida utilis* foi de 54% com resultado semelhante ao obtido para *Candida tropicalis* o que indica ser este gênero de microorganismos mais indicados para o controle poluição carbonada. O tempo de fermentação, no entanto, não deve ser muito longo para que seja possível controlar o risco de contaminação (STAMFORD *et al.*,1986).

TABELA 2 - Parâmetros e eficiência de remoção por *Candida utilis* IZ-1840 em efluente da descarga do reator*:

Parâmetro	DQO(mg.L ⁻¹)	NT(mg.L ⁻¹)	NH ₃ (mg.L ⁻¹)
S/Fermentação	2780	202,74	115,96
Após 72 horas de fermentação	350,26	63,37	31,03
Eficiência de remoção da carga poluidora (%)	87,40	68,57	73,24

* UASB

CONCLUSÕES:

A eficiência de remoção de nitrogênio total é 68,9% e de nitrogênio amoniacal de 88%, no efluente da descarga do reator com 10% de inóculo inicial em 24 horas.

Os efluentes da alimentação e descarga do reator UASB são mais adequados do que o do tanque de maceração do arroz como substrato para o crescimento da levedura.

É possível a remoção de DQO, com esta levedura, ao nível de 54%, em 24 horas e 86% em 72 horas, utilizando-se 10% de inóculo inicial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKUNA, J.C.; BIZEAU, C.; MOLETTA, R. Nitrate reduction by anaerobic sludge using glucose at various nitrate concentrations: ammonification, denitrification and methanogenic activities. **Environmental technology** n.15, p.41-9, 1994.
- ANCIAX, C.M.; LEVERT, J.M.; VANTHOURNOUT, M. Influence of several parameters on the growth of *Candida ingens* in controlled batch culture using

volatile fatty acids as substrates. **Biological Wastes** (30) 21-34. Bélgica, 1989.

AWWA, A.D.E.; WEF, L.S.C. & APHA, A.E.G.- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19 ed. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, Washinton, 1995.

BORIES, A; ROUXEL, R.; CONTE, T.; Cultures des sequentielles bacteries/levures pour la epuration et la valorization des materies azotees et carbonees des effluents - in : Séminaire INRA Altération et Restauration de la Qualité des Eaux Continentales, Pourt- Leucate, 1992.

EL-DIWANY, A.I.; SHAKER, H.M.; FARID, M.A.; EL-ABD, H.A Effect of chemical treatments on the saccharification of rice hulls and yeast growth. **Agricultural Wastes**, 11(2):137-142, 1986.

EK, M.; ERIKSON, K. Utilization of the white-rot fungus *Sporotrichum pulvulentum* as a feedstuff to rats, pigs, and sheep. **Biotechnology and Bioengineering**, XXII: 2285-2303, 1980.

HENRRY, D.P.; GREENFIELD, P.F.; QUANO, E.A; THOMSON, R.H.; FLEMING, G. Efficiency of protein production from yeast grown in liquor derived from anaerobically fermented tropical pasture. **Nature** v.274 (10), 1978.

JAMUNA, R.; RAMAKRISHNA, S.V. S.C.P. Production and removal of organic load from cassava starch

- industry waste by yeasts. **Journal of fermentation and bioengineering**.67 (2):126-131,1989.
- LITCHFIELD, J.H. Production of single cell protein for use in food or feed. **Microbial Technology** (1),1979.
- NORA, L. Secagem intermitente e parboilização de arroz (*Oryza sativa*, L.) de sequeiro. Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 1989. 134 p. (Dissertação de Mestrado).
- SALES, A M.; SALVA,T.J.G.; MENEZES,T.J.B. Incorporação de biomassa fúngica em resíduos agroindustriais por fermentação submersa. **Coletânea do ITAL**, Campinas. 17(2):141-146, 1987.
- STAMFORD, T.L.M.; GUERRA,N.B.; MEDEIROS, R.B.; ALLIVES,L.G.A ; TAVARES,M.O C. Ração animal a partir de resíduos de frutos fermentados. **Boletim SBCTA**, Campinas. 20(3/4):93-102, 1986.
- STANIER, R. Y.; ADELBERG, E. A. ;INGRAHAM, J.H. Nutrition and Growth Conditions as Selective Agents in Natural Populations *in* General Microbiology. Published by Mac Millan press ltd., London, 1976, p.198-200.
- TRIBOLI, E. P. R. Influência da temperatura no cultivo descontínuo de *Candida utilis* IZ- 1840 utilizando glicerol como principal fonte de carbono. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992, 126 p.(Dissertação de Mestrado).
- VENOSA,C.M.S.; LESSER, E.W.; MARTINS,V.M.N.C.; NETTO,W.S. Cultivo de microorganismos em meio contendo farinha de mandioca como principal fonte de carbono Influência de condições experimentais no cultivo de *Aspergillus niger* NRRL 337 em frascos agitados. **Revista Brasileira de Tecnologia**. 6:117-124,1975.
- ZONTA, E . P. & MACHADO, A . SANEST - Sistema de Análise estatística para micro-computadores. Pelotas. 1984 (registrado na Secretaria Especial de Informática, sob nº 066060/categoria A).