



# Estudo de um consórcio de microalgas na remoção de nutrientes de efluentes de curtume

**Aline de Cassia Campos Pena**

*Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).*

**Juliana Tolfo da Fontoura**

**Luciane Ferreira Trierweiler**

*E-mails: [campos@enq.ufrgs.br](mailto:campos@enq.ufrgs.br)  
[ju\\_tolfo17@hotmail.com](mailto:ju_tolfo17@hotmail.com)  
[luciane@enq.ufrgs.br](mailto:luciane@enq.ufrgs.br)  
[mariliz@enq.ufrgs.br](mailto:mariliz@enq.ufrgs.br)*

**Mariliz Gutterres**

Recebido em: 15 mar. 2017. Revisado: 18 mar. 2017. Aceito: 02 abr. 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.21674/2448-0479.34.743-752>

## Resumo

As microalgas se multiplicam rapidamente em águas ricas em nutrientes ou eutrofizadas, principalmente com altas cargas de fósforo e nitrogênio. Algumas pesquisas têm buscado por espécies capazes de crescer em efluentes industriais explorando as vantagens das microalgas em remover os nutrientes dos efluentes e gerar biomassa com valores agregados. O presente trabalho teve como o objetivo testar um consórcio de microalga no tratamento de efluente de curtume. Foi acompanhado o crescimento das microalgas no efluente e a remoção de nutrientes associada a este processo. O consórcio se mostrou eficiente acarretando remoções de Nitrogênio e Fósforo de

88,61% e 92,58%, respectivamente e foi possível isolar uma cultura unialgal do microrganismo mais representativo.

**Palavras-chave:** Biotecnologia. Microrganismos. Biomassa.

## Introdução

---

O cenário atual tem mostrado amplo interesse nas pesquisas sobre biotecnologia, focando os estudos em microrganismos como microalgas, cianobactérias e fungos, nas mais diversas áreas. As microalgas apresentam uma vasta diversidade de aplicação, sendo sua biomassa utilizada como suplementos alimentares, biofertilizantes agrícolas, obtenção de fármacos, produção de biocombustíveis, além de aplicações no tratamento de águas residuais (ANGELIS *et al.*, 2012; DERNER *et al.*, 2006). Conhecidas por converterem energia solar em energia química, as microalgas são microrganismos autotróficos, unicelulares microscópicos, que se reproduzem de forma assexuada, podendo ser procarióticos ou eucarióticos, que se diferenciam quanto à origem, composição química e morfologia (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 2013; LOURENÇO, 2006).

Os trabalhos desenvolvidos com microalgas são influenciados pelas diversas vantagens que apresentam, tal como, fácil cultivo, adaptação em meios sintéticos, rápido crescimento, além de apresentarem alta capacidade de armazenamento de substâncias de reserva, como lipídios, proteínas e carboidratos que podem gerar compostos biotecnológicos com valores agregados (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 2013). Além disso, as microalgas têm a capacidade de se adaptar em diferentes meios, são de crescimento eficaz, eco-amigáveis e econômico (GUO; ZHANG; LI, 2017).

Uma etapa elementar dos estudos com microalgas é o isolamento das linhagens de interesse. Existem várias técnicas para obtenção de uma única espécie, descrita por diversos autores (GONZALEZ *et al.*, 1995; ANDERSEN; KAWACHI, 2005; LOURENÇO, 2006), no entanto, trata-se de uma etapa trabalhosa e lenta.

O processo de isolamento por pipetagem e diluições sucessiva pregado em microalgas com tamanho superior a 10 µm. Consiste na localização da microalga de interesse por um microscópio estereoscópico, seguida de coleta com pipeta Pasteur e transferência para meios de cultura adequados. Este método deve ser realizado sucessivamente até a obtenção de uma única célula. O método de isolamento em meio sólido é aplicado para microalgas pequenas de nanoplâncton e picoplâncton, no qual, são feitas estrias com uma alça bacteriológica em placas de Petri com meio Ágar utilizando uma amostra da cultura. Outra alternativa é o isolamento por diluição em série, onde são realizadas diluições sucessivas da amostra em meio de cultivo. Este método é mais utilizado quando a espécie desejada é abundante no meio (LOURENÇO, 2006).

Especulações sobre o emprego de culturas mistas de microalgas vêm sendo realizadas para obtenção de melhores resultados. KOREIVIENĚ *et al.*, 2014 relataram que o consórcio de microalgas contendo *Chlorella sp.* e *Scenedesmus sp.*, se mostrou mais eficiente na remoção de nitrogênio e fósforo de águas residuais, quando comparado a cultura individual destes microrganismos. Pode-se encontrar alguns estudos sobre o tratamento de águas residuais da indústria de curtumes sem pré-tratamento, empregando diferentes concentrações e etapas distintas do processo, utilizando microalgas, como por exemplo, efluente de ribeira (FONTOURA *et al.*, 2016), efluente de acabamento (couro wet-blue até produto final) (PENA *et*

*al.*, 2017) e efluente de todo o processamento do couro (AJAYAN *et al.*, 2015).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi testar o crescimento de microalgas em efluentes líquidos gerados nas etapas de acabamento (molhado e acabamento final) de curtume, bem como verificar a remoção (aproveitamento) de nitrogênio e fósforo do efluente. E por fim, isolar uma cultura unialgal da microalga predominante para uma posterior identificação.

## **Materiais e Métodos**

---

### **Cultivo das microalgas**

A coleta do um consórcio de microalgas foi realizada em um decantador de tratamento de efluentes desativada, localizado em Montenegro/RS. Neste decantador eram tratados efluentes de curtume de ribeira, curtimento e acabamento. A amostra foi acondicionada em frascos com capacidade para 5000 mL.

Para manutenção da cultura foi usado 180 mL do meio de cultivo Tris-Acetate-Phosphate (TAP) (GORMAN; LEVINE, 1965), apresentado na Tabela 1, e 20 mL do consórcio de microalgas, em erlenmeyers de 250 mL a cada 10 dias.

**Tabela 1** - Composição do meio de cultivo Tris-Acetate-Phosphate - TAP.

| <b>Solução estoque</b>     | <b>Quantidade*</b> | <b>Componentes</b>   |
|----------------------------|--------------------|--|
| <b>Base Tris</b>           | 2,42g              | H <sub>2</sub> NC(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> Tris (hidroximetilaminometano)  |
| <b>TAP</b>                 | 25mL               | NH <sub>4</sub> Cl, MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O, CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O   |
| <b>Solução de fosfato</b>  | 1mL                | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>  |
| <b>Elementos traço</b>     | 1mL                | Na <sub>2</sub> EDTA 2H <sub>2</sub> O, ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O, H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> , MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O, FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O, CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MoO <sub>3</sub> |
| <b>Acido acético conc.</b> | 1mL                | CH <sub>3</sub> COOH   |

\*valores para preparo de 1L de meio de cultura.

O consórcio foi mantido sob aeração constante com vazão de 1 L min<sup>-1</sup> de ar comprimido, temperatura ambiente, em regime de luz contínua 3910 lux. Todos os procedimentos de inoculação e manutenção da cultura foram realizados com vidraria e meio de cultura estéril dentro de uma capela de fluxo laminar vertical com sistema de filtração de ar e lâmpadas com radiação UV.

## **Cultivo em efluente de curtume**

O consórcio foi cultivado em efluente cedido por um curtume de Novo Hamburgo/RS que processa couros nas etapas de acabamento molhado e acabamento final. A amostra foi coletada sem qualquer tipo de tratamento prévio.

O cultivo foi realizado durante 13 dias em frascos de 5000 mL. Foram adicionados 1.350 mL do efluente na concentração de 75% (e 25% de água tratada da própria planta do curtume) e 150 mL do consórcio de microalgas em sua fase de crescimento exponencial,

totalizando 1500 mL. Os cultivos foram realizados sob aeração constante com vazão de 1 L min<sup>-1</sup> de ar comprimido, temperatura ambiente, em regime de luz contínua 3910 lux (em duplicata).

## **Análises**

Durante todos os dias do cultivo foram realizadas análises da densidade óptica pelo espectrofotômetro (T80-UV/vis, PG Instruments no comprimento de onda 570 nm), com as devidas diluições. Antes e ao final dos 13 dias o nitrogênio total foi quantificado por (model TOC-L TNM, Shimadzu) e o fósforo pela NBR 12772 (ABNT, 1992).

## **Isolamento de uma cultura unialgal**

O isolamento da espécie predominante foi realizado utilizando-se o método de diluições sucessivas no meio TAP, seguida de plaqueamento em meio Ágar, conforme proposto por LOURENÇO (2006). Esses métodos foram realizados sob condições fotoautotróficas de crescimento.

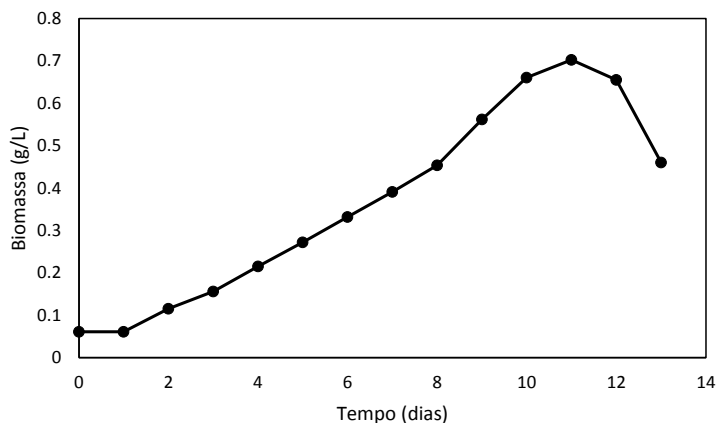
## **Resultados e Discussão**

---

O crescimento da cultura de microalgas foi avaliado pela densidade óptica, no qual uma maior absorbância indica maior concentração de células, segundo a Lei de Lambert-Beer. A Figura 1, apresenta o gráfico de crescimento da biomassa ao longo do cultivo do consórcio de microalgas no efluente bruto.

Observou-se que o consórcio conseguiu se desenvolver no efluente analisado. As fases de crescimento do consórcio ficaram

bem claras no gráfico, sendo identificada a fase lag, onde houve uma adaptação (com um dia de cultivo), seguida da fase exponencial com um crescimento até o 11º dia e por fim a fase de declínio.



**Figura 1** - Crescimento do consórcio de microalgas durante 13 dias de cultivo no efluente de curtume.

A Tabela 2 apresenta os valores das concentrações de Nitrogênio e Fósforo iniciais e finais (antes e após 13 dias de cultivo).

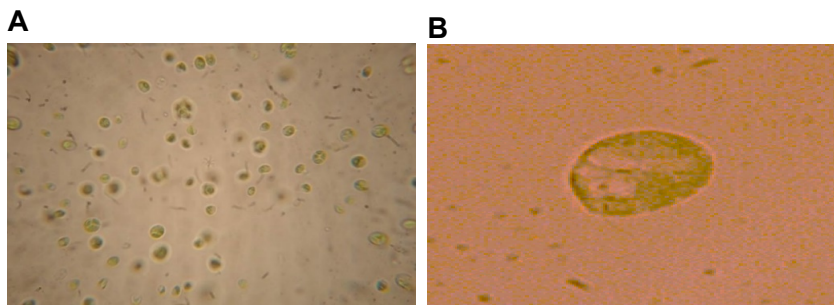
**Tabela 2** - Composição Inicial e final de Nitrogênio e Fósforo.

|                       | <b>Nitrogênio</b> | <b>Fósforo</b> |
|-----------------------|-------------------|----------------|
| <b>Inicial (mg/L)</b> | 48,12             | 3,409          |
| <b>Final (mg/L)</b>   | 0,548             | 0,251          |

Obteve-se uma remoção de 88,61% para o Nitrogênio e 92,58% para o Fósforo após os 13 dias de tratamento. É importante

que o meio tenha fósforo e nitrogênio, pois estes nutrientes são um fator limitante do crescimento de microalgas. Uma vez que, o fósforo participa de processos energéticos como a fotossíntese, a respiração e o transporte de ATP, além da estrutura dos fosfolípidios e outras biomoléculas, e o nitrogênio é fundamental no metabolismo da célula, pois está presente nos nucleotídeos, aminoácidos e pigmentos (GORMAN; LEVINE, 1965). Os resultados obtidos estão próximos dos valores obtidos por Koreiviené *et al.*, 2014, após três semanas de cultivo, (88,6-96,4% e 99,7-99,9%, de nitrogênio e fósforo, respectivamente). A Figura 2A, mostra uma imagem do consórcio de microalgas coletado.

O plaqueamento e as diluições sucessivas mostraram-se eficientes para o isolamento do microrganismo predominante. A Figura 2B, mostra uma imagem microscópica da microalga predominante isolada que apresenta semelhança com a microalga *Tetraselmis sp.*, pelo formato, facilidade de adaptação em diversos meios e na facilidade de locomoção (KLEIN; GONZALEZ, 1993). Para comprovação é preciso realizar mais testes que garantam o gênero da microalga isolada.



**Figura 2** - A) Consórcio de microalgas (aumento de 10x); B) Microalga isolada (aumento microscópico de 40x).



## Conclusão

---

Este estudo mostrou que o consórcio de microalgas foi capaz de crescer no efluente de curtume bruto com 75% de concentração. O cultivo apresentou alta eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo (88,61% e 92,58%, respectivamente). As técnicas de plaqueamento e diluições sucessivas foram eficazes para o isolamento de uma cultura unialgal. Desta forma, o estudo demonstrou que efluente de curtume pode ser usado como uma fonte alternativa de nutrientes para a produção de microalgas.

## Referências

---

AJAYAN, K. V. *et al.* Phycoremediation of Tannery Wastewater Using Microalgae *Scenedesmus sp.* ***International Journal of Phytoremediation***, v. 17, n. 10, p. 907–916, 3 out. 2015.

ANDERSEN, R. A.; KAWACHI M. Traditional Microalgae Isolation Techniques, Chapter 6. In: \_\_ **Algal culturing techniques edited by Andersen R. A.** São Paulo: Elsevier, 2005.

ANGELIS, S. *et al.* Co-Culture of Microalgae, Cyanobacteria, and Macromycetes for Exopolysaccharides Production: Process Preliminary Optimization and Partial Characterization. ***Applied Biochemistry and Biotechnology***, v. 167, n. 5, p. 1092–1106, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. Água – **Determinação de fosforo**. NBR 12772. Rio de Janeiro: ABNT, 1992.

DERNER, R. B. *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. ***Ciência Rural***, v. 36, p. 1959–1967, 2006.

FONTOURA, J. T. DA *et al.* **Influência da intensidade luminosa e da concentração de efluente de curtume na produção de biomassa e na remoção de nitrogênio amoniacal e fósforo pela microalga *Scenedesmus sp.***. In: *SIMPÓSIO INTERNAC.AMBIENTE*, 5., Novo Hamburgo, 2016.

GONZÁLEZ, M. A.; PARRA, O. O.; CIFUENTES, A. S. Técnicas de Cultivo de Microalgas em Laboratório. In: **Manual de Métodos Ficológicos**. 1995.

GORMAN, D. S.; LEVINE, R. P. **Cytochrome and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of *Chlamydomonas reinhardtii***. [S.l: s.n.], 1965.

GUO, L.-P.; ZHANG, Y.; LI, W.-C. Sustainable microalgae for the simultaneous synthesis of carbon quantum dots for cellular imaging and porous carbon for CO<sub>2</sub> capture. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 493, p. 257–264, 2017.

KLEIN, V. L. M.; GONZALEZ, A. A. Cultivo da microalga *tetraselmis chuii* prings em diferentes meios de cultura. **Ciência e Agronomia**, v. 24, p. 91–100, 1993.

KOREIVIENĖ, J. *et al.* Testing of *Chlorella/Scenedesmus* microalgae consortia for remediation of wastewater, CO<sub>2</sub> mitigation and algae biomass feasibility for lipid production. **Journal of Environmental Engineering and Landscape Management**, v. 22, n. 2, p. 105–114, 2014.

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

PENA, A. C. C. *et al.* **Treatment of effluent from tannery with consortium of microalgae**. In: IULTCS CONGRESS, 34., 2016, Chennai, India.

WOJCIECHOWSKI, J. *et al.* **Isolamento e cultivo de microalgas**. [S.l: s.n.], 2013.