

CLARIANA ZANUTTO PAULINO

Produção de biomassa por *Rubrivivax gelatinosus* em
efluente de abatedouro avícola utilizando métodos
industriais

ARAÇATUBA-SP
2006

CLARIANA ZANUTTO PAULINO

Produção de biomassa por *Rubrivivax gelatinosus* em
efluente de abatedouro avícola utilizando métodos
industriais

Dissertação de mestrado apresentada à
Faculdade de Odontologia de Araçatuba e
Curso de Medicina Veterinária da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” - UNESP, como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre.

Orientadora: Prof. Dra. Elisa Helena Giglio Ponsano

ARAÇATUBA-SP
2006

Dedico....

Aos meus pais

Celso Gomes Paulino

e

Clotilde Zanutto Paulino

**pela força, amor, incentivo, carinho e por estarem sempre
presentes em todos os momentos de minha vida.**

AGRADECIMENTOS

A Prof. Dra. Elisa Helena Giglio Ponsano pela orientação deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Marcos Franke Pinto pela prontidão na busca das amostras;

Ao funcionário do Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária (UNESP-Araçatuba), Alexandre José Teixeira por todo auxílio técnico recebido ao longo do desenvolvimento deste trabalho;

As bibliotecárias da Faculdade de Medicina Veterinária (UNESP-Araçatuba), Fátima Maria Metello Bertolucci e Isabel Pereira de Matos por todas as orientações recebidas e revisão das referências bibliográficas;

Ao Departamento de Fisiologia de Odontologia da Unesp de Araçatuba, pela utilização dos equipamentos;

A Sanear pela realização das análises de DQO do efluente;

A empresa Frango Sertanejo de Guapiaçu-SP, pelo fornecimento do efluente para a realização da pesquisa;

A Capes pela concessão da bolsa de mestrado;

*A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Fapesp,
pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa;*

*A Universidade Estadual Paulista, pela oportunidade de realização
deste curso de mestrado;*

*A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão
deste trabalho.*

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS	10
Biotecnologia e biorremediação ambiental	10
Metabolismo energético	13
A fotossíntese e as bactérias fotossintetizantes	14
As Bactérias Púrpuras Não Sulfurosas (BPNS)	19
<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	21
Carotenóides	22
Carotenóides em bactérias fotossintetizantes	28
A indústria de processamento de alimentos e os efluente	29
Demanda Bioquímica de Oxigênio e Demanda Química de Oxigênio	38
Produção de biomassa por microrganismos	39
REFERÊNCIAS	44
 CAPÍTULO 2- CRESCIMENTO FOTOTRÓFICO DE <i>Rubrivivax gelatinosus</i> EM EFLUENTE DE ABATEDOURO AVÍCOLA	 55
Resumo	56
Abstract	57
Introdução	58
Métodos	60
Resultados e Discussão	65
Conclusão	72
Referências	73

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 - Tipos de dejetos e subprodutos resultantes das etapas do processamento avícola	32
Quadro 2 - Características dos efluentes de abatedouros avícolas	33

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Análises microbiológicas do efluente in natura e após tratamento	65
Tabela 2 - Análises físico-químicas do efluente in natura e após tratamento	65

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1 - Curva de crescimento de *R. gelatinosus* em efluente de
abatedouro avícola

67

Figura 2 - Curva de crescimento de *R. gelatinosus* em efluente de
abatedouro avícola

68

Figura 3 - Curva de crescimento de *R. gelatinosus* em meio de Pfennig

68

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Biotecnologia e biorremediação ambiental

Biotecnologia é a aplicação dos princípios da ciência e engenharia para o processamento de materiais por agentes biológicos. Esta aplicação inclui alguns benefícios como a redução da poluição de processos industriais, economia de produção e geração de novos produtos (GAVRILESCU & CHISTI, 2005).

Toda transformação ou remoção de contaminantes do meio ambiente por organismos vivos é chamada biorremediação ambiental. Esta definição do processo natural de tratamento de compostos antropogênicos teve origem há 30 anos atrás, em 1975, com um relatório intitulado *Beneficial Stimulations of Bacterial Activity in Groundwater Containing Petroleum Products*, por R. L. Raymond e colegas de trabalho. Neste trabalho, os autores relataram que a adição de nutrientes na superfície do solo aumentava o número de bactérias que degradavam hidrocarbonetos derivados do petróleo, e desse modo, impulsionava a remoção dos contaminantes (LITCHFIELD, 2005).

De acordo com o Escritório de Estudos Geológicos do Departamento do Interior do Governo Americano (USGS), a biorremediação pode ser definida segundo o American Heritage Dictionary of the American Language como: “O uso de agentes biológicos tais como bactérias e plantas, para remover ou neutralizar contaminantes, como poluentes do solo e da água”.

Martins et al. (2003) definem biorremediação como uma ciência que busca, por meio de estudo, monitoramento e aplicação da propriedade degradativa dos microrganismos, a remediação ambiental. Os autores classificam a definição deste processo em biorremediação *in situ* (no local) que se dá no local contaminado, podendo ser de forma intrínseca, no qual a ciência pouco interfere. Quando há total ausência da interferência da ciência no processo, ela é denominada intrínseca-natural, e no inverso, denominada intrínseca-auxiliada. Esta interferência pode ser explicada como o auxílio à natureza por meio da recolocação de microrganismos e outros processos bem próximos dos utilizados pela própria natureza para fortalecer a ação dos microrganismos no processo da biodegradação. Em alguns casos, são aplicadas verdadeiras técnicas de engenharia, também chamadas de biorremediação engenhada, que vão desde a modificação topográfica do local, implantação de novos microrganismos (organismos alóctones), implantação de bioreatores e aplicação de nutrientes. Outra classificação é a biorremediação denominada *ex situ* em que apenas a parte afetada é removida do ambiente contaminado evitando-se assim um alastramento da contaminação.

O tratamento de efluentes por lodos ativados foi a primeira aplicação da biotecnologia na biorremediação, por meio do controle da poluição de ambientes aquáticos. Recentemente, microrganismos e enzimas têm sido utilizados em diversas aplicações (GAVRILESCU & CHISTI, 2005). A utilização de microrganismos no saneamento básico e ambiental é prática comum desde os primórdios do desenvolvimento dos processos biológicos de tratamento de águas residuárias e resíduos sólidos. A capacidade microbiana de catabolizar diferentes compostos orgânicos, naturais ou sintéticos, e inorgânicos, extraíndo desses compostos fontes nutricionais e energéticas, é o que possibilitou o

emprego desses agentes biológicos pela engenharia sanitária, como solução aos problemas gerados pelos dejetos lançados no meio ambiente (VAZOLLER, 2004).

Sabe-se, atualmente, que os microrganismos como bactérias e fungos, além de responsáveis por importantes transformações metabólicas, pelo controle biológico de doenças e pragas, pela fixação biológica do nitrogênio atmosférico, pela degradação de resíduos vegetais e outros produtos, inclusive tóxicos, são também um manancial de fármacos, corantes, enzimas e ácidos orgânicos, entre muitos outros produtos úteis e ainda inexplorados. Além de exercerem um papel na sobrevivência de outras espécies e na manutenção do equilíbrio entre elas, são fontes de produtos que contribuem para o bem-estar da população humana, inclusive remediando o mal que a própria espécie humana produz ao ambiente. A importância dos microrganismos para a ecologia e biotecnologia é inquestionável. São numerosos os processos biotecnológicos que utilizam microrganismos, seja para obtenção de produtos de valor comercial, seja para, através do próprio processo, chegar-se a um resultado de interesse, como despoluição de um ambiente por biorremediação ambiental (AZEVEDO, 1998).

Um grupo especial de microrganismos, as bactérias fotossintetizantes, encontradas em ambientes naturais, tem sido aplicado com grande potencial biotecnológico, nos seguintes processos: biorremediação ambiental, produção de substâncias antivirais, produção de biomassa fonte de proteínas, vitaminas, ubiquinonas e enzimas (AZAD et al., 2003; SASAKI et al., 2005).

Metabolismo energético

O metabolismo é um conjunto de atividades celulares com objetivos determinados constituído por reações químicas catalisadas por enzimas (LEHNINGER, 1993).

O metabolismo pode ser dividido de acordo com dois tipos de origens energéticas: a química e a luminosa. Organismos chamados fototróficos utilizam luz como fonte de energia e incluem as plantas verdes, alguns microrganismos procariontes e eucariontes além de um grupo especial chamado bactérias fotossintetizantes. Essas bactérias podem ser denominadas púrpuras ou verdes. O termo autotrófico é dado a um grupo de organismos, exclusivamente os procariontes, capazes de crescer a partir de compostos inorgânicos, utilizando-se de dióxido de carbono (CO_2) como fonte de carbono. Muitas células autotróficas obtêm a energia que necessitam a partir da luz solar. Organismos que requerem o carbono na forma orgânica reduzida, como a glicose, são chamados heterotróficos, incluindo os homens, os animais e algumas bactérias (BROCK, 1994).

O processo fotoautotrófico é o metabolismo pelo qual os microrganismos convertem energia radiante em biológica e sintetizam compostos utilizando-se apenas de dióxido de carbono ou carbonatos como fonte de carbono, além de doadores de elétrons. O termo fotoheterotrófico refere-se à utilização de vários substratos orgânicos como fonte de carbono (ERASO & KAPLAN, 2006).

Os microrganismos capazes de utilizar compostos químicos inorgânicos como fonte energética são denominados quimiolitotróficos, enquanto que os quimioheterotróficos utilizam-se dos compostos químicos orgânicos (BROCK, 1994).

A fotossíntese e as bactérias fotossintetizantes

A fotossíntese pode ser caracterizada por reação química na presença de luz na qual a energia luminosa é convertida em energia química (reação de claro) com a redução do CO_2 em compostos orgânicos e, por reação de escuro, na qual a energia química é usada para a fixação do CO_2 . A conversão da energia luminosa em energia química ocorre com a formação da adenosina trifosfato (ATP) e é dependente da presença de pigmentos luminosos como as clorofilas e as organelas intracelulares, os cloroplastos, presentes em algas e plantas. As bactérias fotossintetizantes púrpuras e verdes utilizam a luz para formarem ATP, produzindo nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) da redução de materiais presentes no meio, como H_2S e compostos orgânicos. Nestas bactérias, os cloroplastos não estão presentes e os principais pigmentos fotossintetizantes são chamados bacterioclorofilas, responsáveis pela absorção da luz e ejeção de elétrons em decorrência da excitação luminosa de suas moléculas. Em continuidade às reações de transformação de energia luminosa em energia química, esses elétrons são presos por aceptores (BROCK, 1994).

As bactérias fotossintetizantes possuem diversos tipos de bacterioclorofilas como *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, além de produzirem também os pigmentos carotenóides (ERASO & KAPLAN, 2006).

As bacterioclorofilas são caracterizadas pelos grupos substituintes do anel porfirínico constituinte e, também, pelos espectros de absorção de luz, sendo que cada bacterioclorofila absorve luz de um comprimento de onda específico. Esta luz, quando absorvida pelas bacterioclorofilas, pode, em contato com o ar, desencadear reações

chamadas fotooxidativas, que causam injúria ao aparelho fotossintético da célula (BROCK, 1994; PONSANO, 2000).

Os carotenóides são capazes de absorver luz em comprimentos de ondas complementares aos das bacterioclorofilas e possuem importante função no processo fotossintético, sendo acessórios complementares para a obtenção de energia luminosa e funcionando, também, como agentes fotoprotetores, absorvendo grande parte da luz nociva e protegendo a célula, além de realizarem transferência de energia ao centro da reação para a posterior utilização na fotofosforilação, tornando ampla a faixa de espectro efetiva da fotossíntese (PONSANO, 2000).

As bacterioclorofilas e os carotenóides, maiores pigmentos absorventes de luz das bactérias fotossintetizantes anaeróbias, são formadores de dois sistemas importantes para a realização da fotossíntese desses microrganismos: o centro de reação fotoquímico e os complexos revestidores de luz (LH). Os complexos LH absorvem luz quanta e transportam a energia para o centro de reação (YURKOV & BEATTY, 1998).

Os procariontes fotossintetizantes diferem-se em dois grupos: as bactérias púrpuras e verdes e as cianobactérias. As cianobactérias realizam fotossíntese oxigênica, em que ocorre a produção de oxigênio. As bactérias púrpuras e verdes realizam fotossíntese anoxigênica, na qual não há a produção de oxigênio, sendo desprovidas de fotossistema II, que compreende a fotólise da água. Estas bactérias utilizam-se de compostos reduzidos de enxofre, hidrogênio molecular, ou simplesmente de compostos orgânicos como doadores de elétrons, originando compostos oxidados como sulfatos, prótons, compostos orgânicos e CO₂ (BALLONI et al., 1982; BROCK et al., 1994).

Sabe-se que as bactérias púrpuras anoxigênicas que realizam fotossíntese sob condições anaeróbias na presença de luz possuem um aparato fotossintético anoxigênico, cuja função é a transformação da energia luminosa em gradiente eletroquímico de prótons da membrana fotossintética, o qual pode ser usado para a produção de ATP, o transporte ativo, a motilidade e outros processos de consumo de energia (DREWS & GOLECKI, 1995).

Segundo Yurkov & Beatty (1998), as bactérias púrpuras fototróficas possuem em adição à membrana citoplasmática um sistema intracitoplasmático de membrana (ICM). Os pigmentos dessas bactérias são incorporados ao sistema intracitoplasmático de membrana. A luz e a tensão de oxigênio regulam a formação da ICM. A ICM é induzida quando a tensão de oxigênio é baixa e possui um maior desenvolvimento quando ocorre sob condições anaeróbias. Os autores apresentam a existência de um grupo de bactéria que também produz bacterioclorofila *a* e pigmentos carotenóides designado bactéria fototrófica anoxigênica aeróbia e evidenciam a incapacidade de utilização da bacterioclorofila no crescimento anaeróbio como o aspecto diferencial deste grupo de microrganismo.

Uma diferença entre as bactérias fotossintetizantes anoxigênicas e os organismos oxigênicos é o centro de reação, cada espécie possui um tipo específico. Entretanto, nenhum destes dois tipos de reações bacterianas é capaz de extrair elétrons da molécula de água e muitas espécies podem sobreviver somente em ambientes com baixa concentração de oxigênio. Para fornecer elétrons para a redução do CO₂, as bactérias fotossintetizantes anoxigênicas devem oxidar as moléculas inorgânicas ou orgânicas disponíveis em seu ambiente. Por exemplo, a bactéria púrpura *Rhodobacter sphaeroides* pode usar o succinato para reduzir o nicotinamida adenina dinucleotídeo NAD⁺ por transferência reversa do elétron ligado à membrana dirigido por um potencial eletroquímico. Apesar de algumas diferenças,

os princípios gerais de transferência de energia são os mesmos na fotossíntese anoxigênica e oxigênica (WHITMARSH & GOVINDJEE, 2006).

Como critérios de classificação das bactérias anoxigênicas fototróficas pode-se citar a hibridização do DNA_rRNA, o tipo de pigmentação, as estruturas dos lipopolissacarídeos, a utilização dos substratos orgânicos, a morfologia da membrana intracitoplasmática, a composição do DNA, lipídeos e quinonas, bem como a assimilação de sulfato (ERASO & KAPLAN, 2006).

As bactérias fotossintetizantes anoxigênicas são sistematicamente encontradas em duas ordens e em quatro famílias. A ordem *Rhodospirillales* inclui as famílias *Chromatiaceae* (bactérias púrpuras sulfurosas) e *Rhodospirillaceae* (bactérias púrpuras não sulfurosas); a ordem *Chlorobiales* compreende as famílias *Chlorobiaceae* (bactérias verdes sulfurosas) e *Chloroflexaceae* (bactérias verdes não sulfurosas) (IMHOFF, 1992).

As bactérias púrpuras possuem pigmentos fotossintetizantes localizados em organelas designadas pela membrana intracitoplasmática, sendo os principais pigmentos as bacterioclorofilas *a* ou *b*, e os carotenóides da série espiriloxantina e espiriloxantina alternativa. Possuem motilidade, são encontradas em ambientes aquáticos e podem ser subdivididas em púrpuras sulfurosas e púrpuras não sulfurosas de acordo com a habilidade ou incapacidade de utilização do elemento enxofre como doador de elétron na assimilação fototrófica do dióxido de carbono (BALLONI et al., 1982).

As Bactérias Púrpuras Não Sulfurosas (BPNS) compreendem o grupo mais diversificado das bactérias púrpuras pela grande variedade morfológica, diferenças na estrutura das membranas e nos tipos de pigmentos carotenóides, além de apresentar uma interessante versatilidade energética (PONSANO, 2000). Devido a estas características, as BPNS serão discutidas posteriormente.

Dentre as bactérias púrpuras, as *Chromatiaceae* formam glóbulos de enxofre intracelulares a partir de H_2S , exceto *Ectothiorhodospira* que o deposita extracelularmente. Intra ou extracelular, o enxofre é posteriormente oxidado a sulfato. Nas *Rhodospirillaceae*, a oxidação do H_2S resulta em sulfato sem a formação intermediária do enxofre elementar, e é restrita a algumas espécies, como exemplo, a bactéria *Rhodopseudomonas palustris*. As *Rhodospirillaceae* fotoassimilam os seguintes compostos orgânicos: ácidos carboxílicos, cetonas, álcoois primários e secundários, ácidos graxos e seus derivados, além de compostos aromáticos simples. As bactérias fotossintetizantes utilizam ainda, como fonte de nitrogênio, os seguintes compostos: nitrogênio amoniacal, nitratos, uréia, aminoácidos, peptonas e extrato de levedura; sendo este último fonte de carbono e também fator de crescimento. Os açúcares quase não são assimilados, exceto aerobicamente no escuro; já os polissacarídeos e os biopolímeros nunca são utilizados (IMHOFF & TRUPER, 1989).

Dentre os fatores de crescimento, as bactérias fotossintetizantes utilizam-se de vitaminas do grupo B como a biotina, a tiamina, o ácido p-aminobenzoico, o ácido nicotínico e a niacina. A luz possui influência determinante sobre o desenvolvimento das atividades bioquímicas destas bactérias. A intensidade luminosa e sua composição espectral regulam a quantidade de pigmento fotossintetizante presente na célula. O ótimo de temperatura para o crescimento encontra-se na faixa entre 30-35°C e o valor ótimo de pH entre 7,0 e 8,5 aproximadamente, com exceção para *Rhodopseudomonas acidophila* em que o pH ótimo está ao redor de 5,6 (BALLONI et al., 1982).

Quanto à ecologia, as bactérias fotossintetizantes anoxigênicas ocupam habitat aquático como águas eutrofizadas internas e costeiras, águas residuais zootécnicas e domésticas, águas termais, solos submersos, onde são, geralmente, influenciadas pela disponibilidade de luz, compostos reduzidos de enxofre ou produtos finais do metabolismo

anaeróbio de outros microrganismos e por uma baixa concentração de oxigênio (TRUPER & IMHOFF, 1992; ERASO & KAPLAN, 2006).

Os microrganismos fotossintetizantes têm sido comumente estudados em biotecnologia devido à eficiência biológica e à capacidade de utilização da energia luminosa para a produção de compostos orgânicos. O uso de bactérias fotossintetizantes no tratamento de resíduos da indústria de alimentos, na produção de rações para animais com alto valor nutricional e no acúmulo de carotenóides tem sido observado por pesquisadores (KOBAYASHI & TCHAN, 1973; SASAKI et al., 1978; NOPARATNARAPORN et al., 1983; NOPARATNARAPORN & NAGAI, 1986; GETHA et al., 1998; KIM & LEE, 2000; PONSANO, 2000; AZAD et al., 2003; PONSANO et al., 2003; COSTA et al., 2004).

As Bactérias Púrpuras Não Sulfurosas (BPNS)

As Bactérias Púrpuras Não Sulfurosas (BPNS), que levam esse nome por serem incapazes de oxidar enxofre a sulfato, constituem o grupo das bactérias fototróficas que, sob condições anaeróbias, possui crescimento fotoheterotrófico, utilizando-se de diversos substratos orgânicos como acetatos, piruvatos e ácidos dicarboxílicos (BALLONI et al., 1982). Por outro lado, estes microrganismos são capazes de crescer fotoautotroficamente utilizando-se de hidrogênio ou compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons, além do dióxido de carbono como carbono de origem. Estes organismos são capazes de crescer em ambientes com concentrações variáveis de oxigênio. Muitas espécies são capazes de crescer quimioheterotroficamente sob condições microaeróbicas e aeróbicas no escuro ou na presença de luz. O oxigênio inibe a síntese de fotopigmentos nestas bactérias. Algumas espécies também crescem quimiolitotroficamente (ERASO & KAPLAN, 2006).

Outras podem realizar metabolismo sob anaerobiose no escuro, usando compostos químicos como aceptores de elétrons. São amplamente distribuídas na natureza, podendo ser encontradas em ambientes aquáticos marinhos ou de água doce, em solos úmidos e em diversos tipos de efluentes industriais. Possuem a capacidade de degradação da matéria orgânica destes efluentes, principalmente na presença de luz solar ou em ambientes abaixo da superfície sob condições anaeróbicas em lagoas de depuração (IMHOFF & TRUPER, 1989).

Segundo Holt et al. (1994), existem 26 espécies encontradas em 6 gêneros no subgrupo 3 da classificação das BPNS: *Rhodobacter*, *Rhodocyclus*, *Rhodomicrobium*, *Rhodopila*, *Rhodopseudomonas* e *Rhodospirillum*. O gênero *Rhodocyclus* compreende três espécies: *Rhodocyclus purpureus*, *Rhodocyclus tenuis* e *Rhodocyclus gelatinosus*. Atualmente três novos gêneros têm sido citados e englobam um total de 31 espécies arranjadas em 9 gêneros: *Rhodoferax*, *Rubrivivax* e *Rhodocista*.

Pesquisas com hibridização de DNA-rRNA possibilitaram a transferência de *Rhodocyclus gelatinosus* para o novo gênero *Rubrivivax*, como *Rvi. gelatinosus*, cujas diferenças em nível molecular não interferem nas características fisiológicas desse microrganismo, permanecendo assim a mesma descrição (HOLT, 1994). Neste trabalho optou-se por utilizar-se da nova denominação *Rubrivivax gelatinosus* que já vem sendo citada em diversos trabalhos (TRUPER & IMHOFF, 1992; YURKOV & BEATTY, 1998; AGALIDIS et al., 1999; STEIGER et al., 2000).

Rubrivivax gelatinosus

Rubrivivax gelatinosus é caracterizada como bactéria fototrófica púrpura não sulfurosa pertencente à família *Rhodospirillaceae*, não utiliza compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons e requer vitaminas como biotina e tiamina para o seu crescimento. É um bacilo Gram-negativo, levemente encurvado ou reto, medindo de 0,4 a 0,7 µm por 1 a 3 µm. Suas células possuem motilidade pela presença de um flagelo polar. Multiplica-se por fissão binária e encontra-se amplamente distribuída em ambientes naturais e efluentes industriais. Possui membranas fotossintetizantes revestidas por pequenas invaginações em forma de dedo da membrana intracitoplasmática (IMHOFF & TRUPER, 1989).

A bactéria *Rvi. gelatinosus* é naturalmente encontrada em efluente de abatedouro avícola e em lagoas de estabilização, possibilitando a aplicação deste microrganismo no tratamento destes resíduos. Muitos estudos têm sido desenvolvidos com esta bactéria envolvendo o seu crescimento em resíduos industriais tanto para a realização do tratamento biológico quanto para a produção de células protéicas (TRUPER & IMHOFF, 1992; PRASERTSAN et al., 1993; PRASERTSAN et al., 1997; PONSANO, 2000; CHORIT et al., 2002; PONSANO et al, 2003).

Rvi. gelatinosus possui crescimento fotoautotrófico quando utiliza-se de hidrogênio molecular como doador de elétrons e CO₂ como doador de carbono. Porém, prefere o modo de crescimento fotoheterotrófico sob condições anaeróbicas na presença de luz e com diferentes substratos orgânicos como doadores de carbono e elétrons, podendo fotoassimilar acetato, citrato, fumarato, etanol, glicose, lactato, malato, piruvato e succinato.

Pode utilizar-se de citrato como única fonte de carbono para o seu crescimento, sendo este composto o constituinte principal no enriquecimento seletivo de seu cultivo. Algumas cepas podem também apresentar crescimento sob condições microaeróbicas ou aeróbicas no escuro (BALLONI et al., 1982). Esta bactéria possui a capacidade de liquefazer a gelatina, por meio de uma protease extracelular e apresenta temperatura e pH ótimo de crescimento de 30°C e 6,5-7,5 respectivamente (HOLT et al., 1994).

Os principais pigmentos fotossintetizantes de *Rvi. gelatinosus* são as bacterioclorofilas e os carotenóides da série espiriloxantina alternativa, cujos componentes principais são esferoidene, hidroxiesferoidene e espiriloxantina. Esses pigmentos carotenóides, além de responsáveis pela coloração de suas colônias, que varia de rosa a vermelho podem ainda ser utilizados como pigmentantes de rações, devido à capacidade de deposição tissular em alguns animais (PONSANO, 2000; PONSANO et al., 2003).

Carotenóides

Os carotenóides são pigmentos naturais produzidos por microrganismos e plantas de grande importância na medicina e na biotecnologia (BHOSALE, 2004).

Os pigmentos carotenóides constituem uma família de compostos terpenóides que, pela sua estrutura, possuem a capacidade de absorver luz seletivamente. Podem ser classificados em dois grupos principais, os carotenos constituídos inteiramente por hidrocarbonetos, e as xantofilas, derivadas dos carotenos pela adição de funções oxigenadas, também chamadas oxicarotenóides (PONSANO, 2000). Possuem diversidades estruturais com diferentes funções biológicas como a coloração de espécies específicas, agentes fotoprotetores de células, revestidores de luz e como precursores de alguns

hormônios. São usados comercialmente como corantes de alimentos, suplemento em rações de animais, na indústria de cosméticos e farmacêutica e possuem uma significativa importância como agente anti-oxidante, além da prevenção de doenças crônicas. Muitos carotenóides como o β -caroteno, o licopeno, a astaxantina, a cantaxantina e a luteína podem ser utilizados comercialmente e produzidos por síntese química, fermentação ou isolados de fontes naturais (LEE & SCHIMIDT-DANNERT, 2002).

Os carotenóides são constituídos por mais de 600 variantes estruturais reportados e produzidos por organismos como bactérias, algas, fungos e plantas superiores. Sua produção natural mundial é estimada em 100 milhões de toneladas por ano, sendo a principal fornecida pela fucoxantina das algas fotossintetizantes marrons. Os mamíferos não estão bioquimicamente capacitados para a biossíntese de carotenóides, porém, possuem a capacidade de acumulação ou conversão de precursores que obtêm da dieta como a conversão de β -caroteno em vitamina A, sendo que no plasma humano há a presença do β -caroteno e do licopeno (FONTANA, 2006).

O conhecimento de que os carotenóides possuem um importante papel na saúde humana provoca um aumento na procura por alimentos ricos nesses pigmentos. Muitos carotenóides empregados atualmente são sintetizados quimicamente, no entanto, a procura por alimentos naturais está crescendo continuamente (BHOSALE & GADRE, 2001). Esses alimentos naturais, fonte de carotenóides, incluem extratos de frutas, flores e vegetais, alguns organismos como as algas *Dunaliella*, *Haematococcus*, e *Murielopsis*, os fungos *Blakeslea trispora*, as leveduras *Xanthophyllomyces dendrorhous* e *Rhodotorula glutinis* e as bactérias *Sphingomonas* sp, *Agrobacterium aurantiacum*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*

(SILVA et al., 2004), além das bactérias fotossintetizantes como *Rubrivivax gelatinosus* (PONSANO et al., 2003) e *Rhodopseudomonas sphaeroides* (SASAKI et al., 1978).

O primeiro carotenóide a ser sintetizado e comercializado como corante de alimentos foi o β -caroteno, sendo hoje o mais comumente encontrado, além de outros como a luteína, a violaxantina, a neoxantina, o α -caroteno, a zeaxantina e o licopeno, pois estão presentes diariamente na dieta de humanos e animais. Em particular, na dieta de frangos, estão disponíveis comercialmente: o apo-8'-etil-éster ácido carotenóico (apoéster) e a β - β -caroteno-4'4'-diona (cantaxantina) como pigmentantes das aves e produtos derivados (FONTANA, 2006).

O termo pigmentante está associado aos carotenóides adicionados às rações de animais com o objetivo de coloração dos tecidos corpóreos como a pele e a gordura ou de seus produtos derivados. A sensação da cor é característica de valor marcante na estimulação do consumidor de carnes e ovos. A adição de pigmentantes como os oxicarotenóides em rações de aves possibilita a coloração da pele, canela de frangos e da gema de ovos. Esta adição pode ser justificada pelo desejo dos consumidores em adquirirem produtos de maior coloração (PONSANO, 2000).

Além da importância da cor, existe também o conceito já popularizado de que os carotenóides são efetivamente saudáveis. Como exemplo, pode-se citar a astaxantina que possui a capacidade 250 vezes superior no combate de radicais livres quando comparado com o α -tocoferol (vitamina E) (FONTANA, 2006).

A demonstração direta da função antioxidante dos carotenóides tem sido relatada em alguns estudos. Segundo Krinsky (1989), frangos com encefalomácea foram tratados com carotenóides derivados do etil- β -apo-8'-carotenóide. O tratamento foi baseado na

hipótese de que a rancificação da gordura ou a peroxidação dos lipídeos da dieta podiam causar a encefalomácea nas aves. Concluiu-se que o tratamento com o uso de carotenóides pôde conduzir a proteção nesses animais. Além disso, o autor verificou a importância do acúmulo dos carotenóides nos animais para a sua posterior conversão em vitamina A numa outra pesquisa realizada com dieta de ratos. Grandes doses de β -caroteno (100 mg/kg) foram inseridas na alimentação desses animais durante onze semanas. Sob estas circunstâncias, foi encontrado um aumento de retinol e palmitato de retinol no fígado acompanhado por uma elevação do retinol no soro sanguíneo dos ratos analisados.

Evidências epidemiológicas e resultados experimentais sugerem que a dieta com o uso de carotenóides inibe o início de muitas doenças que envolvem a presença de radicais livres. Dentre elas, podem-se citar algumas como a arteriosclerose, a catarata, a esclerose múltipla, a degeneração macular relacionada à idade, além do câncer (BHOSALE, 2004).

Nos animais, a concentração de carotenóides coloridos em determinados tecidos incluindo a pele, as plumas e as carcaças possui, além da ação anti-oxidante, a proteção em sinais de comunicação que envolve a atração, a advertência e a camuflagem. Pode-se citar como exemplo, no peixe *Gastroteus aculeatus*, o aumento da coloração alaranjada do abdômen no macho significando o sinal de acasalamento para a fêmea, e para os machos, indicando defesa de território (FONTANA, 2006).

Comercialmente, a produção de carotenóides por microrganismos compete com a síntese por processos químicos. Eficientes estimulações na produção desses pigmentos por microrganismos vêm sendo estudadas por Bhosale (2004). O autor descreve diferentes estimulantes tanto do meio ambiente como do meio de cultura que podem influenciar na produção de carotenóides. A luz, a temperatura, a adição de compostos químicos, íons

metálicos, sais, intermediários do ácido tricarboxílico e solventes são exemplos desses estimulantes. Por exemplo, a microalga fotoautotrófica *Dunaliella* sp, produtora de β -caroteno, requer alta intensidade luminosa, adição de sais e nutrientes para o seu crescimento e síntese de carotenóides. O autor sugere também diversos agentes químicos como aminas, alcalóides, antibióticos, além de solventes incluindo etanol, metanol e etilenoglicol como aditivos aos cultivos dos organismos para análise do efeito na síntese de carotenóides. Estudos realizados por Gu et al. (1997) indicaram que estimulantes químicos como a piridina estimularam a formação de licopeno em *Blakeslea trispora* e *Phycomyces blakesleeanus* e que a adição de 0,2% (v/v) de etanol ao meio de cultura da levedura *Xanthophyllomyces dendrorhous* provocou um aumento na produção de pigmentos carotenóides.

Segundo Bhosale (2004), a produção de carotenóides e o seu acúmulo são inteiramente afetados pela intensidade luminosa em algas, fungos e bactérias. No entanto, esta intensidade varia entre os diferentes organismos sendo que o aumento ou a diminuição do tempo e da iluminação reflete na produção desses pigmentos. De acordo com o autor, a elevação da intensidade luminosa provocou alta produção de astaxantina por *Haematococcus pluvialis* na presença de sais de ferro, o acúmulo de luteína em *Muriellopsis* sp foi aumentado de 40% quando o fluxo de densidade do fóton variou de 184 para 460 $\mu\text{mol fóton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e o cultivo da bactéria *Flavobacterium* sp, sob iluminação contínua, produtora do carotenóide zeaxantina, proporcionou um aumento na produção do pigmento com a variação da intensidade luminosa.

A temperatura é um dos mais importantes fatores ambientais que afeta o crescimento e desenvolvimento dos organismos, incluindo a biossíntese de carotenóides.

Ela tem sido estudada para controlar a concentração das enzimas envolvidas na produção desses pigmentos (HAYMANN et al., 1974). Bactérias fotossintetizantes similares a *Chloroflexus aurantiacus* crescidas a 55°C produzem γ -caroteno e hidroxi- γ -caroteno. Estudos realizados por Hanada et al. (1995) indicaram que o aumento da temperatura provocou uma variação nos níveis dos pigmentos dessas bactérias. Em contraste, estudos com a utilização de baixas temperaturas no crescimento da cianobactéria marinha unicelular *Synechococcus* sp também levaram um aumento nos níveis de carotenóides (SAKAMOTO & BRYANT, 1998).

A produção de carotenóides utilizando-se de bactérias pode ser vantajosa em relação a outros métodos. Silva et al. (2004), examinando a produção de β -caroteno pela bactéria isolada do solo *Sphingomonas* sp, observaram alta produção do pigmento. A produção de β -caroteno por outros organismos como *Dunaliella salina* (alga), *Blakeslea trispora* (fungo), *Phaffia rhodozyma* e *Rhodotorula glutinis* (leveduras) foi significamente mais baixa do que a apresentada pela bactéria. Os autores também constataram que a *Sphingomonas* sp apresenta habilidade de utilizar-se da lactose como fonte de carbono. Esta característica pode ser uma solução para o índice elevado de lactose no soro ultrafiltrado, um subproduto da produção de queijo. O cultivo desse microrganismo é uma vantagem adicional significativa porque fornece um uso alternativo para o ultrafiltrado do soro de queijo.

Carotenóides em bactérias fotossintetizantes

Os carotenóides presentes nas bactérias fotossintetizantes podem ser amarelos, vermelhos, marrons ou verdes e, associados às bacterioclorofilas, determinam a coloração da cultura. Por exemplo, as BPNS, não são púrpuras como diz o próprio nome, e sim castanhas, cor-de-rosa, castanho-vermelhas ou púrpura-vermelha, conforme o carotenóide existente (BROCK et al., 1994).

Os carotenóides sintetizados pelas bactérias fotossintetizantes podem ser divididos quimicamente em grupos que incluem as seguintes funções orgânicas: aldeídos, ésteres, metiléteres, cetonas, álcoois, hidrocarbonetos e glicosídeos. Possuem estrutura química diferente dos carotenóides produzidos por algas, fungos, plantas superiores e bactérias não fotossintetizantes com as seguintes características: geralmente possuem cadeias alifáticas, grupamento hidroxil e metoxil terciários, dupla ligação entre os carbonos C₃ e C₄, sendo que, os oxigrupos conjugados à cadeia poliênica podem estar ligados ao C₂ (sob aerobiose) ou ao C₄ (sob anaerobiose), além disso, o grupo funcional dos aldeídos pode estar presente na posição C₂₀ e os carotenóides cíclicos possuem normalmente anéis aromáticos como grupos terminais (PONSANO, 2000).

O estudo da composição dos carotenóides em espécies específicas indica que existe um grande número de carotenóides de estruturas químicas incomuns. Yurkov & Beatty (1998) descrevem vinte diferentes tipos de carotenóides vermelhos e laranjas encontrados em *E. ramosum* (bactéria fototrófica aeróbia anoxigênica) dos quais dez foram purificados e caracterizados estruturalmente. Todos os carotenóides purificados continham 40 átomos de carbono e foram classificados em quatro grupos: a) carotenóides bicíclicos (β -

caroteno e derivados hidroxilados como zeaxantina, adonixantina, caloxantina e nostoxantina); b) carotenóides monocíclicos (bacteriorubixantina); c) carotenóides acíclicos (espiriloxantina); d) carotenóides sulfato polares (eritroxantina).

O esferoidene e a espiriloxantina têm sido detectados como os tipos mais abundantes de carotenóides em bactérias púrpuras fototróficas, tais como: *Rhodobacter*, *Roseobacter* sp, *Rhodospirillum rubrum*, *Acidiphilium rubrum* e *Rubrivivax gelatinosus* (TRUPER & IMHOFF, 1992; YURKOV & BEATTY, 1998).

As bactérias da família *Rhodospirillaceae* sintetizam carotenóides acíclicos C₄₀ com duplas ligações C-3,4 conjugadas que são modificadas por grupos hidroxilas ou metanol nas posições C-1 e/ou C-1'. A biossíntese de carotenóides via espiriloxantina tem sido estabelecida em diferentes espécies de *Rhodospirillaceae*. Estudos realizados com *Rhodospirillum rubrum* identificaram a espiriloxantina como o principal carotenóide constituinte dessa bactéria (STEIGER et al., 2000).

A indústria de processamento de alimentos e os efluentes

O fenômeno da poluição ambiental vem crescendo muito nos últimos anos. Este fato, além de ser assunto discutido por cientistas e ambientalistas, faz parte da preocupação de toda a sociedade. As indústrias, principais fontes de poluição mundial, têm sofrido um controle de fiscalização que incentiva a modificação ou a substituição de processos intrinsecamente poluentes, com a finalidade de diminuição do impacto ambiental causado por muitos processos de produção. Este controle refere-se, também, ao desenvolvimento de processos que permitam a remediação dos poluentes produzidos visando uma diminuição da poluição ambiental (BRITO et al., 2004a).

De acordo com Schoenhals (2006), a dinâmica do uso da água no mundo pelo setor industrial vem crescendo, segundo os dados: no ano de 1990 o volume total estimado captado foi de 38 km³/ano, sendo que, efetivamente consumidos 3 km³/ano. Em 2000, o volume total estimado captado foi de 748 km³/ano, sendo efetivamente consumidos 87 km³/ano. Para o ano 2025, a estimativa é de que o volume total captado seja de 1106 km³/ano sendo a previsão efetiva de consumo de 146 km³/ano.

Segundo Kroyer (1995), a indústria de alimentos possibilita desde a formação de produtos, como também a emissão de resíduos e de subprodutos que provocam o impacto ambiental. As indústrias de processamento de carnes utilizam uma grande quantidade de água desde o abate até as etapas de processamento industrial. Estas águas são caracterizadas por uma elevada quantidade de matéria orgânica e de sólidos em suspensão e podem ser chamadas de efluentes ou águas residuárias. De acordo com o autor, os resíduos do processamento da indústria alimentícia possuem algumas características em comum como:

- a) grande quantidade de matéria orgânica como proteínas, lipídeos e carboidratos;
- b) grande quantidade de sólidos suspensos;
- c) alta Demanda Química de Oxigênio (DQO);
- d) alta concentração de nitrogênio;
- e) grande variação de pH.

Desde a antiguidade, a carne faz parte da alimentação do homem, o que tornou necessário o estabelecimento de prática de abate animal, cujas técnicas vêm se aprimorando ao longo dos tempos (SCARASSATI, 2003).

A criação e o processamento industrial de aves podem gerar problemas de contaminação ambiental por disposição indevida de resíduos, podendo ocasionar problemas graves de comprometimento do ecossistema. Todas as etapas do processamento industrial contribuem de alguma forma para a carga de resíduos poluentes ao meio ambiente. Nesse caso, os resíduos são sangues, vísceras, penas, carnes e tecidos gordurosos, perdas de processo, detergentes ativos e cáusticos, dentre outros. O mais significativo é o sangue, ao qual, na área de abate, juntam-se, ainda, penas, esterco e sujeiras, acarretando numa poluição maior. As etapas de abate e processamento de aves resultam em grandes quantidades de dejetos líquidos, semi-sólidos e sólidos que são poluentes e, por isso, necessitam de uma adequada separação e tratamento, antes de serem liberados no meio ambiente (Quadro 1) (FERNANDES, 2004).

As águas descartadas pelas indústrias de carnes são fontes poluidoras do meio ambiente por possuírem uma grande quantidade de matéria orgânica, podendo contaminar lagos e rios quando lançadas e não tratadas adequadamente (ZORATTO et al., 2003). Devido à elevada Demanda Bioquímica Oxigênio (DBO) e por serem ricos em proteínas, os despejos líquidos dos abatedouros e frigoríficos, são altamente putrescíveis, podendo provocar fortes odores (SCARASSATI et al., 2003).

Quadro 1. Tipos de dejetos e subprodutos resultantes das etapas do processamento avícola

Etapas do processamento	Tipo de dejetos ou subproduto
Recepção	Fezes, penas e água de limpeza
Sacrifício	Sangue e água de limpeza
Escalda/depenamento	Penas, sangue/gordura e água de limpeza
Evisceração	Vísceras, sangue, gordura, pequenos pedaços de carne e água de limpeza
Resfriamento	Sangue, gordura, pequenos pedaços de carne e água
Classificação e empacotamento	Água de limpeza
Limpeza da planta	Água de limpeza

Fonte: FERNANDES, 2004

O Quadro 2 indica as principais características dos efluentes de abatedouros avícolas caracterizadas segundo Schoenhals (2006) baseando-se em dados colhidos em 1973 pelo Environmental Protection Agency (EPA) e pelo Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA) pertencentes à Universidade de São Carlos-SP.

Quadro 2. Características dos efluentes de abatedouros avícolas

Análise	Unidade	EPA		CRHEA
		Variação	Média	Média
pH		6,3-7,4	6,9	6,8
O.D	mg.L-1	0,0-2,0	0,5	2,0
DBO	mg.L-1	370,0-610,0	398,0	810,0
DQO	mg.L-1	nr	nr	460,0
Sólidos Totais	mg.L-1	nr	650,0	nr
Sólidos Fixos	mg.L-1	nr	486,0	nr
Sólidos Voláteis	mg.L-1	nr	164,0	nr
Sólidos sedimentáveis	mg.L-1	150,0-200,0	175,5	1,4
Óleos e graxas	mg.L-1	170,0-230,0	201,0	784,0

Fonte: SCHOENHALS (2006)

*nr: não reportado

A agroindústria é um setor que possui grande capacidade de gerar renda, emprego e exportações para o país. Dentre os vários setores agroindustriais, destaca-se o da avicultura (cujo principal produto é o frango, seja inteiro ou em pedaços) devido à sua importância para a balança comercial do Brasil. De acordo com a Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos, em 2002 as exportações de carne de frango alcançaram um valor de US\$ 1.3 bilhão (ABEF, 2002) e, durante o período de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003 foram responsáveis por 41,38% das exportações do país (MAPA, 2003).

Outro impacto importante do abate avícola está relacionado ao consumo de água, que é utilizada em diversas etapas do processamento segundo Scarassati et al. (2003), tais como:

Escaldagem: as aves são imersas em tanque contendo água quente na primeira etapa de lavagem para remover impurezas e sangue para facilitar a retirada das penas.

Depenagem: realizada por ação mecânica em máquinas próprias, acompanhada de lavagem por meio de chuveiros.

Escaldagem dos pés: as aves são transferidas para outro transportador, onde são penduradas pela cabeça, e passam por processo de escaldagem dos pés e retirada mecânica das cutículas.

Evisceração: remoção das vísceras comestíveis (fígado, coração e moela), intestinos e pulmões (extraídos à vácuo), com posterior lavagem das carcaças.

Pré-resfriamento: as carcaças passam por tanque contendo água gelada, onde permanecem cerca de 30 minutos e chegam a atingir uma temperatura de 0 a 5 °C.

Limpeza da planta: etapa importante, que é realizada ao final do dia, quando são utilizados detergentes, todos eles biodegradáveis, para evitar problemas na estação de tratamento de efluentes.

O processamento de um frango para o consumo humano requer a utilização de aproximadamente 10-12 litros de água, sendo que 60% é convertida em água resíduária com pH entre 6,1 e 7,1, alta DQO, grande percentual de sólidos, sangue e conteúdo de gordura (CHÁVEZ et al., 2005). De acordo com Fernandes (2004), no Brasil, o consumo médio de água dos frigoríficos de aves dá-se em torno de 15 litros por ave, enquanto que, nos Estados Unidos, este valor situa-se em torno de 26 litros por animal. Os sistemas de tratamentos destes resíduos industriais são constituídos por tratamento preliminar e primário

com a finalidade de remoção de partículas grosseiras e de óleos e gorduras; o tratamento secundário é utilizado para a remoção da matéria orgânica dissolvida e é constituído por sistemas de lagoas de estabilização, aeróbios ou anaeróbios (BARROS et al., 2000).

Muitos efluentes de abatedouros avícolas são tratados por meios físico-químicos utilizando-se de grandes quantidades de produtos químicos e de energia para secar o resíduo e gerar uma quantidade de 20 gramas de lodo por litro de água. Esta deposição de lodos é dificultosa, limitando o uso desta técnica (CHÁVEZ et al., 2005). O tratamento aeróbio dos dejetos gerados por esses efluentes é limitado devido à necessidade de alto consumo de energia para a aeração (DEL POZO et al., 2000).

Muitos procedimentos têm sido desenvolvidos com o objetivo de minimizar o impacto causado pelos efluentes ao meio ambiente. De acordo com Brito et al. (2004a), esses procedimentos podem ser classificados conforme relacionados:

- Métodos físicos: subdivide-se em diversas categorias, sendo a primeira representada pela separação de fases para a remoção de material sólido como: sedimentação, decantação, filtração, centrifugação e flotação. A segunda categoria é representada pelos métodos de transição de fases, caracterizada pela transformação das formas físicas das substâncias como: destilação, evaporação, precipitação física, cristalização. A terceira categoria está representada pelos métodos de transferência de fase, destacando-se os procedimentos de extração por solventes e a absorção. A última categoria está representada por processos de separação molecular, isto é, processos de filtração utilizando-se de membranas seletivas. Neste grupo são encontradas as técnicas de ultrafiltração, osmose reversa e diálise.

- Métodos químicos: são bastante variados e dependem, exclusivamente, das características do efluente. Como exemplos: a neutralização ácido-base, a cloração, a precipitação química, a eletrólise e os métodos oxidativos, utilizando ozônio. A cloração é um dos métodos químicos mais utilizados para o tratamento de água destinado ao consumo humano, em que o cloro atua como desinfetante e oxidante; no entanto, a presença de compostos orgânicos na água pode levar à formação de compostos organoclorados, podendo ser o produto final do tratamento mais tóxico que o efluente de origem, acarretando em uma desvantagem para este método.
- Métodos fotoquímicos: técnica fundamentada na formação de $\text{OH}^\cdot$ (radical hidroxila), que apresenta alta capacidade para oxidar substratos de interesse. A formação desta espécie resulta da reação da água com a vaga eletrônica (lacuna) produzida em algumas substâncias como os semicondutores metálicos de TiO_2 ou ZnO , sob efeito de radiação ultravioleta. Além da formação do radical hidroxila, espécies podem ser diretamente reduzidas pelo elétron ou oxidadas pela lacuna.
- Métodos térmicos: como exemplo, a incineração, que é um processo consistente na utilização de substrato poluente como fonte de energia, alcançando a mineralização completa dos poluentes. A incineração é um processo extremamente caro para implementação, sendo utilizado em casos mais específicos, como por exemplo, o lixo hospitalar.
- Métodos biológicos: consistem na remoção de compostos constituídos por carbono, em que a coagulação de sólidos coloidais e a estabilização da matéria orgânica podem ser conseguidas biologicamente por meio de microrganismos, principalmente bactérias, capazes de converter os compostos orgânicos coloidais e dissolvidos em vários gases e biomassa (BRITO et al., 2004b). Podem ser classificados em dois tipos:

a) Processos aeróbicos: caracterizados pela utilização de microrganismos na presença de oxigênio. Como exemplo, pode-se citar o sistema de lodos ativados, em que os microrganismos contidos num tanque de aeração são capazes de transformar as substâncias contaminantes em CO_2 e biomassa microbiana não tóxica. O nitrogênio orgânico é transformado em amônio ou nitrato, enquanto o fósforo orgânico é transformado em ortofosfato.

b) Processos anaeróbicos: caracterizados pela utilização de microrganismos capazes de realizarem a degradação das substâncias na ausência de oxigênio podendo produzir dióxido de carbono e metano além de amônia e gás sulfídrico. A biodegradação sob condições anaeróbicas tem sido objeto de interesse nos últimos anos, em função da capacidade de certos microrganismos transformarem um grande número de compostos clorados em espécies menos tóxicas. O sistema combinado anaeróbio-aeróbio aumenta significativamente a eficiência do processo de tratamento permitindo uma redução da área ocupada pelas estações de tratamento e o tempo de residência.

Dentre os processos de tratamento biológico encontram-se:

a) Lagoas de estabilização: sistema de fornecimento natural de oxigênio por meio de desenvolvimento de algas e microrganismos em lagoas construídas com a finalidade de degradação microbiana dos compostos orgânicos poluentes, e conversão a dióxido de carbono e água (MARTINS et al., 2003). São os seguintes os sistemas das lagoas de estabilização: lagoas facultativas, sistemas de lagoas anaeróbicas seguidas por lagoas facultativas, sistemas de lagoas aeradas seguida por lagoas de decantação. Estes sistemas possuem desvantagens como a dificuldade de satisfazer padrões de lançamento bem restritos, devido à simplicidade operacional, o descaso na manutenção (crescimento de vegetação), a necessidade de remoção de algas do efluente para o cumprimento de padrões

rigorosos, a variação no desempenho, de acordo com as condições climáticas, além da possibilidade de desenvolvimento de insetos (ZORATTO et al., 2003).

b) Lodos ativados, filtros biológicos, lagoas aeradas e valos de oxidação: a degradação microbiana de compostos orgânicos poluentes ocorre por meio do metabolismo aeróbio, facilitado pela disponibilidade artificial de oxigênio em reatores ou em lagoas, realizando uma conversão a dióxido de carbono e água (MARTINS et al., 2003). É um dos métodos de tratamento biológico mais utilizados com eficiência de remoção na DBO e DQO (MELCHIOR et al., 2003). Possuem desvantagens como a necessidade de alto consumo de energia para a aeração (DEL POZO et al., 2000).

Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A expressão Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), utilizada para exprimir o valor da poluição produzida por matéria orgânica oxidável biologicamente, corresponde à quantidade de oxigênio que é consumida pelos microorganismos do esgoto ou águas poluídas, na oxidação biológica, quando mantida a uma dada temperatura por um espaço de tempo convencionado. Essa demanda pode ser suficientemente grande, para consumir todo o oxigênio dissolvido da água, o que condiciona a morte de todos os organismos aeróbios de respiração subaquática. O teste de Demanda Química de Oxigênio (DQO) baseia-se no fato de que todos os compostos orgânicos, com poucas exceções, podem ser oxidados pela ação de um agente oxidante forte em meio ácido. Uma das limitações, entretanto, é o fato de que o teste não diferencia matéria orgânica biodegradável e matéria orgânica não

biodegradável, a primeira determinada pelo teste de DBO. A DQO possui como vantagem o tempo de teste, que é realizado em poucas horas, enquanto o teste de DBO requer no mínimo 5 dias (período de incubação) (DEBERDT, 2006).

Produção de biomassa por microrganismos

Uma alternativa de redução na quantidade de efluentes, quando possível, é a sua reutilização. As operações de reciclagem podem estar relacionadas com o retorno do efluente ao processo de produção (quando contém quantidades significativas de algum insumo), transferência para outro processo (quando o resíduo de um processo serve de insumo para outro) e processamento para a obtenção de energia (incineração). Um exemplo das possibilidades de diminuir o volume de efluentes por meio da implementação de operações de reciclagem é dado pela indústria de papel e celulose Selenga (Rússia). Nesta indústria, a utilização de processos biológicos e físico-químicos possibilitou a reutilização dos efluentes atingindo o desejado estado de descarga zero. Ou seja, a indústria consegue produzir aproximadamente 173.000 toneladas de madeira por ano, sem emitir efluentes para o meio ambiente (BRITO et al., 2004a). Um método de recuperação ambiental dos efluentes industriais de processamento de alimentos é a possível utilização do subproduto gerado na bioconversão do resíduo em células protéicas (GETHA et al., 1998).

Considerando que o desenvolvimento industrial de baixo custo associado à produção de alimentos protéicos de alta qualidade são difíceis metas de realização para o sucesso na aquicultura, células protéicas de microalgas têm sido utilizadas como alimento essencial para o estágio larval de peixes e mariscos e as leveduras têm sido consideradas

substitutas das algas em filtros alimentadores. Porém, a produção das células protéicas por microalgas e leveduras não tem sido utilizada extensivamente como dieta na aquicultura quando comparada às bactérias fotossintetizantes. A utilização dessas bactérias possui algumas vantagens como: a maior digestibilidade da parede celular bacteriana, a constituição celular rica em proteínas, carotenóides, cofatores biológicos e vitaminas, além de apresentarem-se disponíveis em subprodutos de resíduos agrícolas. Estudos mostraram que a adição de bactérias fotossintetizantes como fonte alimentar estimulou um crescimento de zooplânctons muito maior do que o apresentado pela adição de algas verdes, além disso são muito úteis para o crescimento de camarões. Grandes danos econômicos foram supridos com a adição de bactérias fotossintetizantes em tanques de camarões afetados por uma doença na brânquia (KIM & LEE, 2000).

De acordo com Prasertsan et al. (1993), as bactérias fotossintetizantes podem ser utilizadas no tratamento de resíduos, além disso, possuem alto valor nutricional, suas células são fontes de proteínas e vitaminas. Os autores realizaram estudos com *Rvi. gelatinosus* em efluente de processamento de peixe e observaram crescimento sob condições anaeróbias e na presença de luz com uma produção de biomassa de 4 g l^{-1} e uma redução de 78% na DQO.

Peixes alimentados por células de bactérias fotossintetizantes apresentaram aumento significativo no peso e na taxa de sobrevivência quando comparados à dieta normal utilizada (KOBAYASHI & TCHAN, 1973). Além disso, a suplementação com carotenóides em rações animais intensificou a coloração da gemas de ovos em frangos e da pele de carpas e de camarões (NOPARATNARAPORN & NAGAI, 1986).

Segundo Prasertsan et al. (1997), a bactéria fotossintetizante *Rvi. gelatinosus* possui as seguintes características: habilidade de crescimento em efluente de

processamento de peixe, capacidade de degradação da matéria orgânica de efluentes e uma produção de biomassa constituída por proteínas (40 a 69%), carotenóides (0,09 a 80 mg/g de peso seco), vitamina B₁₂ (30 a 79 mg/kg de peso seco), além de bacterioclorofilas e aminoácidos essenciais.

Ponsano et al. (2003) investigaram a composição química da biomassa produzida por *Rvi. gelatinosus* em efluente de abatedouro avícola e encontraram 67,6% de proteína, 27,6% de carboidrato 0,6 % de lipídeos e 4,2% de cinzas. Neste trabalho, os autores concluíram que a biomassa da bactéria possui uma composição química adequada, além de aminoácidos essenciais, que favorecem a sua utilização como aditivo em rações para aves.

Kim & Lee (2000) executaram três diferentes tipos de fermentação anaeróbia com a bactéria fotossintetizante *Rhodopseudomonas palustris* para a produção de biomassa a ser utilizada na alimentação de peixes. Os autores obtiveram uma biomassa com 72-74% de proteína e uma composição de ácido esteárico e ácido oléico maior do que a encontrada por *Chlorella* e levedura. Além disso, foi estimado um custo de US\$ 79/kg célula seca para a produção de biomassa por *R. palustris* baseado na metodologia de fermentação anaeróbia utilizada. Este custo projetado foi maior do que o realizado por algas, porém quando comparado à um processo de larga escala ordenado este custo pode ser superado. Como conclusão, a produção de biomassa pela bactéria foi apresentada como uma alternativa viável para a aqüicultura.

Estudos com o cultivo de bactérias fototróficas em efluentes agroindustriais demonstraram uma produção de biomassa rica em proteínas (65% de proteína crua), além de aminoácidos essenciais, vitamina B₁₂, pigmentos carotenóides e ácido fólico (SASAKI et al., 1981; NOPARATNARAPORN et al., 1983).

Balloni et al. (1987) estudaram o crescimento e avaliaram a produção de biomassa pelas bactérias fotossintetizantes *Rhodospirillum fulvum* e *Rhodopseudomonas palustris* em meio sintético e em efluentes industriais (refinaria de açúcar e abatedouro de suínos). Os autores encontraram diferentes utilizações para a biomassa produzida por esses microrganismos quando crescidas em meio sintético tais como ingredientes em rações para peixes e fertilizantes. Além disso, o processo de obtenção de biomassa nos efluentes mostrou-se eficiente com capacidade despoluente podendo trazer benefício econômico para o tratamento desses resíduos industriais.

Hu & Gao (2003) estudaram a otimização de crescimento e composição de ácidos graxos da microalga *Nannochloropsis* sp sob condições fotoautotróficas enriquecida com CO₂ e em condições mixotróficas com adição de acetato. Foi possível uma produção de biomassa rica em ácidos graxos e proteínas. De acordo com os autores, os ácidos graxos produzidos por microalgas podem possuir valores nutritivos para a saúde de animais e humanos.

Segundo uma pesquisa realizada por Fontana (2006), a levedura *Xanthophyllomyces* pode ser cultivada em caldo de cana bruto e uréia ou em bagaço de cana hidrolisado para a produção de astaxantina. O autor revela que a vinhaça, um subproduto poluidor da indústria sucro-alcooleira, quando adicionada ao cultivo, possui efeito benéfico, aumentando o teor de astaxantina.

Considerando:

a necessidade de tratamento das águas residuárias da indústria de abatedouro avícola;

a habilidade da bactéria fotossintetizante *Rubrivivax gelatinosus*, natural deste ambiente, em crescer e degradar a matéria orgânica desse efluente e produzir biomassa;

a possibilidade da utilização da biomassa constituída por pigmentos carotenóides e componentes nutricionais na ração de aves para a promoção da coloração de produtos de avicultura e melhoria do desempenho zootécnico das aves,

o presente trabalho teve como objetivos estudar o crescimento fotoheterotrófico de *Rvi. gelatinosus* em resíduo de abatedouro avícola e desenvolver uma metodologia para a produção da biomassa da bactéria neste substrato, utilizando equipamentos industriais.

O efluente foi inicialmente tratado por meio das técnicas industriais de filtração, desnatamento e pasteurização, seguido da adição do inóculo de *Rvi. gelatinosus*. Após o período de cultivo, foram realizadas as operações de microfiltração e liofilização, para gerar a biomassa da bactéria. A produtividade e a capacidade despoluente do processo desenvolvido foram determinadas.

O capítulo 2, intitulado **Crescimento fototrófico de *Rubrivivax gelatinosus* em efluente de abatedouro avícola** teve como objetivos: caracterizar o crescimento de *R. gelatinosus* em efluente de abatedouro avícola, determinar a produtividade do processo de obtenção de biomassa nesse substrato e avaliar a capacidade despoluente do processo de cultivo da bactéria no efluente. O crescimento da bactéria no substrato foi caracterizado pelas curvas de crescimento dadas pela leitura óptica (absorvância) em espectrofotômetro e técnica de gravimetria (peso seco g l⁻¹). A produtividade do processo de obtenção de biomassa foi obtida por meio da fórmula: produtividade = g de biomassa (massa seca)/ l⁻¹ d⁻¹ e a capacidade despoluente de cultivo da bactéria no efluente foi realizada pela análise Demanda Química Oxigênio (DQO). O trabalho foi escrito segundo as normas da revista **Bioresource Technology**.

REFERÊNCIAS

Associação Brasileira dos Exportadores de Frango. ABEF. Relatório Anual 2002. Disponível em: <http://www.abef.com.br/Relatorios_Anuais.asp> Acesso em 12 de janeiro de 2006.

AGALIDIS, I.; MATTIOLI, T.; REISS-HUSSON, F. Spirilloxanthin is released by detergent from *Rubrivivax gelatinosus* reaction center as an aggregate with unusual spectral properties. **Photosynthesis Research**, v. 62, n. 1, p. 31-42, 1999.

AZAD, S.A.; VIKINESWARY, S.; CHONG, V.C.; RAMACHANDRAN, K.B. *Rhodovulum sulfidophilum* in the treatment and utilization of sardine processing wastewater. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 13-18, 2003.

AZEVEDO, J.L. Biodiversidade microbiana e potencial biotecnológico. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa CNPMA, 1998. p. 445-461.

BALLONI, W.; CARLOZZI, P.; VENTURA, S.; DE PHILIPPIS, P.; BOSCO, M. A three years experiment on the production of *Rhodopseudomonas* and *Rhodospirillum* biomass by outdoor culture on different wastes. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIOMASS FOR ENERGY AND INDUSTRY, 4, 1987, Orleans. Proceedings....London: Elsevier Applied Science, 1987. p. 598-602.

BALLONI, W.; MATERASSI, R.; FILPI, C.; SILI, M.; VINCENZINI, A. E.; FLORENZANO, G. **Il metodo di trattamento a batteri fotosintetici delle acque di scarico**. Firenze: Progetto Finalizzato CNR Promozione della Qualità dell'Ambiente, 1982. 205 p.

BARROS, F. G.; DEL NERY, V.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; GIANOTTI, E. P. Modificação da população microbiana de uma lagoa facultativa tratando efluente líquido de abatedouro de frango. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27., 2000, Porto Alegre. **Anais eletrônicos...** Rio de Janeiro: ABES, 2000. p. I-066.

BHOSALE, P. Environmental and cultural stimulants in the production of carotenoids from microorganisms. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 63, n. 4, p. 351-361, 2004.

BHOSALE, P. B.; GADRE, R. V. Productions of β -carotene by a mutant of *Rhodotorula glutinis*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 55, n. 4, p. 423-427, 2001.

BRITO, N. N.; PATERNIANI, J. E. S.; ZAMORA, P. P.; NETO, A. L. O.; BATTISTI, A.; PELEGRINI, R. T. Alguns métodos de tratamento para efluentes industriais visando a minimização dos impactos ambientais. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 4., 2004, Rio Claro. **Anais eletrônicos...** São Paulo: 2004.a

BRITO, N. N.; ZAMORA, P. P.; NETO, A. L. O.; BATTISTI, A.; PATERNIANI, J. E. S.; PELEGRINI, R. T. Biorremediação e controle ambiental. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 4., 2004, Rio Claro. **Anais eletrônicos...** São Paulo: 2004.b

BROCK, T. D.; MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Biology of microorganisms**. New York: Pretince Hall, 1994. 909p.

CHÁVEZ, P.C.; CASTILHO, L.R.; DENDOOVEN, L.; ESCAMILLA-SILVA, E.M. Poutry slaughter wastewater treatment with an up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 15, p. 1730-1736, 2005.

CHORIT, W.; THANAKOSET, P.; THONGPRADISTHA, J.; SASAKI, K.; NOPARATNARAPORN, N. Identification and cultivation of photosynthetic bacteria in wastewater from a concentrated latex processing factory. **Biotechnology Letters**, v. 24, p. 1055-1058, n. 13, 2002.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. F. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using aa fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, n. 3, p. 237-241, 2004.

DEBERDT, A. J. Qualidade de água. Dezembro de 2006. Disponível em: [http: <educar.sc.usp.br/biologia/prociencias/qagua.htm>](http://educar.sc.usp.br/biologia/prociencias/qagua.htm) Acesso em 8 dez de 2006.

DEL POZO, R.; DIEZ, V.; BÉLTRAN, S. Anaerobic pré-treatment of slaughterhouse wastewater using fixed-film reactors. **Bioresource Technology**, v. 71, n. 2, p. 143-149, 2000.

DREWS, G.; GOLECKI, J. R. Structure, molecular organization and biosynthesis of membranes of purple bacteria. In: BLANKENSHIP, R. E.; MADIGAN, M. T.; BAUER, C. E. **Anoxygenic photosynthetic bacteria**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1995. p. 231–257.

ERASO, J.M.; KAPLAN, S. Photoautotrophy. Encyclopedia of Life Sciences, **Intercience**. Disponível em: <<http://www.nrw.intercience.wiley>> Acesso em: 16 jan 2006.

FERNANDES, M. A. **Avaliação de um desempenho de um frigorífico avícola quanto aos princípios da produção sustentável**. 2004. 120f. Dissertação (Mestrado em Administração) – Programa de Pós-Graduação do Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

FONTANA, J. D.; MENDES, S. V.; PERSIKE, D.; PERACETTA, L. F.; PASSOS, M. **Carotenóides: cores atraentes e ação biológica**. Biotecnologia ciência & desenvolvimento. Disponível em: <http://www.Biotecnologia.com.Br/bio/13_e.htm> Acesso em 2 set 2006.

GAVRILESCU, M.; CHISTI, Y. Biotechnology: a sustainable alternative for chemical industry. **Biotechnology Advances**, v. 23, n. 7-8, p. 471-499, 2005.

GETHA, K.; VIKINESWARY, S.; CHONG, V.C. Isolation and growth of the phototrophic bacterium *Rhodopseudomonas palustris* strain B1 in sago-starch-processing wastewater.

World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 14, n. 4, p. 505-511, 1998.

GU, WL.; AN, GH.; JOHNSON, E. A. Ethanol encreases carotenoid production in *Phaffia rhodozyma*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 19, n.2, p. 114-117, 1997.

HANADA, A.; HIRAISHI, A.; SHIMADA, K.; MATSUURA, K. *Chloroflexus aggregans* sp. nov., a filamentous phototrophic bacterium which forms dense cell aggregates by active gliding movement. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 45, p. 676-681, 1995.

HAYMAN, E. P.; YOKOYAMA, H.; CHICHESTER, C. O.; SIMPSON, K. L. Carotenoids biosynthesis in *Rhodotorula glutinis*. **Journal of Bacteriology**, v. 120, p. 1339-1343, 1974.

HOLT, J.G. Anoxygenic phototrophic bactéria. In: HOLT, J. G. (Ed.) et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9th ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1994. p. 353-376.

HU, H.; GAO, K. Optimization of growth and fatty acid composition of a unicellular marine picoplankton, *Nannochloropsis* sp., with enriched carbon sources. **Biotechnology Letters**, v. 25, n. 5, p. 421-425, 2003.

IMHOFF, J.F. Taxonomy, phylogeny and general ecology of anoxygenic phototrophic bacteria. In: MANN, N.H.; CARR, N.G. **Photosynthetic Prokaryotes**. New York: Plenum Press, 1992. p. 53-92.

IMHOFF, J. P.; TRUPER, H. G. Purple nonsulfur bacteria. In: STALEY, J. T. (Ed.) et al. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 8.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1989. p. 1635 – 1709.

KIM, J. K.; LEE, B. K. Mass production of *Rhodospseudomonas palustris* as diet for aquaculture. **Aquacultural engineering**, v. 23, n.4, p. 281-293, 2000.

KOBAYASHI, M.; TCHAN, Y. T. Treatment of industrial waste solutions and production of useful by-products using a photosynthetic bacterial method. **Water Research**, v. 7, n. 8, p. 1219-1224, 1973.

KRINSKY, N. I. Antioxidant functions of carotenoids. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 7, n. 6, p. 617-635, 1989.

KROYER, G. Th. Impact of food processing on the environment- an overview. **Lebensm.-Wiss. U.- Technol**, v. 28, n.6, p. 547-552, 1995.

LEE, P.C.; SCHMIDT-DANNERT, C. Metabolic engineering towards biotechnological production of carotenoids in microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.60, n. 1-2, p. 1-11, 2002.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1993. 725p.

LITCHFIELD, C. Thirty years and counting: biorremediation in its prime? **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 273-279, 2005.

MARTINS, A.; DINARDEI, A. L.; FORMAGI, V. A; LOPES, T. A; BARROS, R. M.; CONEGLIAN, C. M. R.; BRITO, N. N.; SOBRINHO, G. D.; TONSO, S.; PELEGRINI, R. Biorremediação. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 3., 2003, Rio Claro. **Anais eletrônicos...** São Paulo: 2003.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. Dados estatísticos 2003.

MELCHIOR, S. C.; CAMARGO, M. L.; CONEGLIAN, C. M. R.; BRITO, N. N.; LOPES, T. A; BARROS, R. M.; SOBRINHO, G. D.; TONSO, S.; PELEGRINI, R. Tratamento de efluentes por processo de lodos ativados. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 3., 2003, Rio Claro. **Anais eletrônicos...** São Paulo: 2003.

NOPARATNARAPORN, N.; NAGAI, S. Selection of *Rhodopseudomonas sphaeroides* P47 as a useful source of single cell protein. **Journal of General and Applied Microbiology**, v. 32, n.4, p. 351-359, 1986.

NOPARATNARAPORN, N.; NISHIZAWA, Y.; HAYASHI, M.; NAGAI, S. Single cell protein production from cassava starch by *Rhodopseudomonas gelatinosa*. **Journal of Fermentation Technology**, v. 61, n.5, p. 515-519, 1983.

PONSANO, E.H.G. **Avaliação da capacidade pigmentante de biomassa de *Rhodocyclos gelatinosus* em frangos de corte.** 2000. 93f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.

PONSANO, E.H.G.; LACAVA, P.M.; PINTO, M.F. Chemical compositions of *Rhodocyclus gelatinosus* biomass produced in poultry slaughterhouse wastewater. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. 2, p. 143-147, 2003.

PRASERTSAN, P.; CHOORIT, W.; SUWANNO, S. Optimization for growth of *Rhodocyclus gelatinosus* in seafood processing effluents. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 9, n. 5, p. 593-596, 1993.

PRASERTSAN, P.; JATURAPORNIPIPAT, M.; SIRIPATANA, C. Utilization and treatment of tune condensate by photosyntetic bacteria. **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, n. 11, p. 2439-2445, 1997.

SAKAMOTO, T.; BRYANT, D. A. Growth at low temperature causes nitrogen limitation in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002. **Archives of Microbiology**, v. 169, n. 1, p. 10-19, 1998.

SASAKI, K.; HAYASHI, M.; NAGAI, S. Growth on propionate-acetate media of *Rhodopseudomonas sphaeroides* S and its vitamin B12 biosynthesis. **Journal of Fermentation Technology**, v. 56, n. 3, p. 200-206, 1978.

SASAKI, K.; NOPARATNARAPORN, N.; HAYASHI, M.; NISHIZAWA, Y.; NAGAI, S. Single cell protein production by treatment of soybean wastes with *Rhodopseudomonas gelatinosa*. **Journal of Fermentation Technology**, v. 59, n. 6, p. 471-477, 1981.

SASAKI, K.; WATANABE, M.; SUDA, Y.; ISHIZUKA, A.; NOPARATNARAPORN, N. Applications of Photosynthetic Bacteria for Medical Fields. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n. 5, p. 481-488, 2005.

SCARASSATI, D.; CARVALHO, R. F.; DELGADO, V. L.; CONEGLIAN, C. M. R.; BRITO, N. N.; TONSO, S.; SOBRINHO, G. D.; PELEGRINI, R. Tratamento de efluentes de matadouros e frigoríficos. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 3., 2003, Rio Claro. **Anais eletrônicos...** São Paulo: 2003.

SCHOENHALS, M. **Avaliação da eficiência do processo de flotação aplicado ao tratamento primário de efluente de abatedouro avícola**. 2006. 99f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química de Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

SILVA, C.; CABRAL, J. M. S.; VAN KEULEN, F. Isolation of a β -carotene over-producing soil bacterium, *Sphingomonas* sp. **Biotechnology Letters**, v. 26, n.3, p. 257-262, 2004.

STEIGER, S.; ASTIER, C.; SDMANN, G. Substrate especificity of the expressed carotenoid 3,4-desaturase from *Rubrivivax gelatinosus* reveals the detailed reaction sequence to spheroidene and spirilloxanthin. **Biochemical Journal**, v. 349, (Pt 2), p. 635-640, 2000.

TRUPER, H. G.; IMHOFF, J. F. The genera Rhodocyclos and Rubrivivax. In: BALLOWS, A.; TRUPER, H. G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K. H. **The procaryotes**. 2.ed. Berlin: Springer-Verlag, 1992. v.2, cap. 129, p. 2556-2561.

United State Geological Survey. USGS. Disponível em <<http://water.usgs.gov>> Acesso em set 2006.

VAZOLLER, R. F. Microbiologia e saneamento ambiental. Junho de 2004. Disponível em: <<http://www.bdt.fat.org.br/publicações/padct/bio/cap9/3/rosana.html-89k>> Acesso em 13 jun 2004.

YURKOV, V. V.; BEATTY, J. T. Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 3, p. 695-724, sept. 1998.

ZORATTO, A. C.; GATTI, C. F.; LOPES, C. A.; BARROS, R. M.; BRITO, N. N.; CONEGLIAN, C. M. R.; TONSO, S.; SOBRINHO, G. D.; PELEGRINI, R. Lagoas facultativas. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 3., 2003, Rio Claro. **Anais eletrônicos...** São Paulo: 2003.

WHITMARSH, J.; GOVINDJEE. **Concepts in photobiology:** photosynthesis and photomorphogenesis. Disponível em: <[http:// www.life.uiuc.edu/govindjee/paper/gov.html](http://www.life.uiuc.edu/govindjee/paper/gov.html)>
Acesso em 11 set 2006.

CAPÍTULO 2

CRESCIMENTO FOTOTRÓFICO DE *Rubrivivax gelatinosus* EM EFLUENTE DE ABATEDOURO AVÍCOLA

Crescimento fototrófico de *Rubrivivax gelatinosus* em efluente de abatedouro avícola

Clariana Z. Paulino, Elisa H. G. Ponsano*

Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Curso de Medicina Veterinária,

Universidade Estadual Paulista. P. O. Box 341, Araçatuba-SP, Brasil – 16050-680

Resumo

Rubrivivax gelatinosus é uma Bactéria Púrpura Não Sulfurosa (BPNS) que apresenta a capacidade de realizar a biorremediação de águas residuárias e, ao mesmo tempo, produzir pigmentos carotenóides. Os objetivos desse estudo foram a caracterização da curva de crescimento da bactéria no efluente de abatedouro avícola em nível de 1% (v/v) de inóculo, a determinação da produtividade do processo de obtenção de biomassa e a avaliação da capacidade de remoção da Demanda Química Oxigênio do processo. *R. gelatinosus* apresentou maior crescimento no oitavo dia de cultivo (Absorvância = 1.177; peso-seco = 0.18 g l⁻¹), produtividade de 0.085 g biomassa (massa seca) l⁻¹ d⁻¹ e uma redução de 91% na DQO do efluente de abatedouro avícola.

Palavras-chaves: *Rubrivivax gelatinosus*; biomassa; bactéria púrpura não sulfurosa; Demanda Química Oxigênio; produtividade.

Phototrophic growth of *Rubrivivax gelatinosus* in poultry slaughterhouse wastewater

Clariana Z. Paulino, Elisa H. G. Ponsano*

Support, Production and Animal Health Department, College of Veterinary Medicine, São Paulo State University. P. O. box 341, Araçatuba – SP, Brazil - 16050 – 680

Abstract

Purple nonsulfur phototrophic bacterium *Rubrivivax gelatinosus* was used to promote the bioremediation of poultry slaughterhouse wastewater. The aims of this study were to characterize the bacterium growth curve in that effluent at 1% (v/v) inoculum level, to determine the productivity of the biomass production process and to evaluate the Chemical Oxygen Demand removal activity of the process. *R. gelatinosus* showed the highest growth on the 8th day of cultivation (Absorbance = 1.177; Dry weight = 0.18 g l⁻¹), productivity was around 0.085 g biomass (dry weight) l⁻¹ d⁻¹ and the COD of the poultry slaughterhouse wastewater decreased in 91%.

Keywords: *Rubrivivax gelatinosus*; biomass; purple nonsulfur bacteria; Chemical Oxygen Demand; productivity.

* Corresponding author. Tel. +55 18 3636-3270; fax: +55 18 3622-6487

E-mail address: elisahgp@fmva.unesp.br (Elisa H. G. Ponsano)

1. Introdução

Biotecnologia é a aplicação dos princípios da ciência e engenharia para o processamento de materiais por agentes biológicos (Gavrilescu and Chisti, 2005). O tratamento de efluentes por lodos ativados foi a primeira aplicação da biotecnologia na biorremediação, por meio do controle da poluição de ambientes aquáticos. Atualmente, microrganismos e enzimas têm sido utilizados em diversas aplicações (Gavrilescu and Chisti, 2005). São numerosos os processos biotecnológicos que utilizam microrganismos, seja para obtenção de produtos de valor comercial, seja para, através do próprio processo, chegar-se a um resultado de interesse, como despoluição de um ambiente por biorremediação ambiental (Azevedo, 1998). Este processo é um caminho atrativo, pois promove além da purificação de efluentes, a utilização deste próprio recurso, como por exemplo, a utilização de subprodutos na produção de novos alimentos (Zheng et al., 2005).

Bactérias fotossintetizantes, também chamadas fototróficas, podem ser encontradas em rios, lagos e sistemas de tratamento de efluentes. Estas bactérias, quando crescem anaerobicamente na presença de luz utilizando-se de compostos orgânicos como fonte de carbono são classificadas fotoheterotróficas (Choorit et al., 2002).

Uma característica do metabolismo de bactérias fototróficas é a habilidade de crescer em diferentes condições e meios, utilizando-se de diversos substratos (Imhoff, 1992). A aplicação do potencial biotecnológico deste grupo de microrganismo inclui: a biorremediação de efluentes, a produção de substâncias, tais como antivirais, células protéicas, enzimas e a remoção de metais pesados em águas poluídas (Azad et al., 2003).

A bactéria fotossintetizante *Rubrivivax gelatinosus* é caracterizada como Bactéria Púrpura Não-Sulfurosa (BPNS), sendo incapaz de oxidar enxofre (S^0) a sulfato (SO_4^{2-}) e, sob condições anaeróbias, na presença de luz, seu modo de crescimento predominante é o fotoheterotrófico, no qual

utiliza substratos orgânicos como acetatos, piruvatos e ácidos dicarboxílicos. Por outro lado, microrganismos fototróficos são capazes de crescer utilizando-se de hidrogênio ou compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons, além do dióxido de carbono como fonte de carbono (Eraso and Kaplan, 2006).

R. gelatinosus apresenta a habilidade de crescer em efluente de abatedouro avícola e produzir biomassa constituída por pigmentos carotenóides fotossintetizantes ricos em proteínas e aminoácidos essenciais para aves que, quando adicionados às rações desses animais, promovem uma maior coloração a gemas de ovos e carcaças de frangos (Ponsano et al., 2003). Os carotenóides são importantes pigmentos naturais produzidos por alguns microrganismos e têm exercido funções fundamentais na medicina e biotecnologia, tais como: a coloração de espécies específicas, agentes fotoprotetores de células, precursores de alguns hormônios e são também usados comercialmente como corantes de alimentos, suplementos em rações de animais e na indústria de cosméticos (Lee and Schmidt-Dannert, 2002). A produção e o acúmulo de carotenóides variam com o tipo de microrganismo e podem ser afetados pela irradiação de luz em algas, fungos e bactérias (Bhosale, 2004). O aumento ou a diminuição do tempo e da intensidade de luz interfere na produção de carotenóides, sendo que esta produção é geralmente associada com o crescimento do microrganismo ou com o aumento da atividade enzimática para a biossíntese de carotenóides (Bhosale, 2004).

Em abatedouros avícolas, as etapas de processamento requerem a utilização de águas principalmente durante a escalda, depenagem, evisceração, lavagem e resfriamento das carcaças (Cardoso et al., 2003). Estas etapas geram águas residuárias, caracterizadas pela alta concentração de matéria orgânica, incluindo lipídeos, proteínas e sólidos em suspensão que, quando descartadas, podem contaminar o ambiente de rios e lagos (Chávez et al., 2005). Uma das mais importantes aplicações da biotecnologia é a redução da poluição ambiental através do tratamento de efluentes (Chávez et al., 2005). Uma opção para a redução da carga poluente do efluente de abatedouro

avícola gerada pelo processo industrial é o tratamento biológico representado pelo cultivo da bactéria fototrófica *R. gelatinosus* (Ponsano et al., 2003).

Dentro desse contexto, os objetivos deste estudo foram caracterizar o crescimento de *R. gelatinosus* em efluente de abatedouro avícola, determinar a produtividade do processo de obtenção de biomassa nesse substrato e avaliar a capacidade despoluente do processo de cultivo da bactéria no efluente.

2. Métodos

2.1 Microrganismo

A cultura de *Rubrivivax gelatinosus* foi isolada do efluente de abatedouro avícola, caracterizada com base em testes morfológicos e bioquímicos (Ponsano, 2000) e armazenada em meio de Pfennig semi- sólido (Pfennig, 1974).

2.2. Meio de cultivo

O meio de cultivo utilizado para o preparo do inóculo de *R. gelatinosus* foi o meio de Pfennig líquido (Pfennig, 1974) adicionado das soluções vitamínicas de biotina 0.0015% e tiamina 0.005%.

Composição do meio de Pfennig (g l⁻¹ água destilada) (Pfennig, 1974):

KH₂PO₄ 0.5; NH₄Cl 0.4; MgSO₄.7H₂O 0.4; NaCl 0.4; CaCl₂.2H₂O 0.05; Na₂S₂O₃.5H₂O 0.2; citrato de ferro III 0.005; acetato de sódio 1.0; extrato de levedura 0.5; solução de microelementos 1.0 ml; ágar bacteriológico 12.0. O pH 7.0, ajustado com solução de NaOH 5.0 M; Esterilização a 121°C por 15 minutos, antes da adição das soluções de microelementos e vitaminas.

Solução de microelementos (mg l⁻¹ água destilada): ZnSO₄.7H₂O 10.0; MnCl₂.4H₂O 3.0; H₃BO₃ 30.0; CoCl₂.6H₂O 20.0; CuCl₂.2H₂O 1.0; NiCl₂.6H₂O 2.0; Na₂MoO₄.2H₂O 3.0. Esterilização a 121°C por 15 minutos.

Soluções vitamínicas: solução de biotina 0.0015%: 1.5 mg de biotina; 100 ml de água destilada. Solução de tiamina 0.005%: 5.0 mg de tiamina-HCl; 100 ml de água destilada. Esterilização por filtração em membrana Millipore 0.22 µm.

2.3. Substrato

O efluente de abatedouro avícola utilizado como substrato para o crescimento microbiano foi coletado de manhã na empresa Frango Sertanejo, localizada no município de Guapiaçu- SP, após passar pelas operações industriais de gradeamento, decantação e flotação. O resíduo foi mantido em galões de plástico, a 25°C, sob abrigo de luz por aproximadamente 3 horas antes de iniciar o tratamento com a finalidade de conservação, evitando-se a proliferação de microrganismos e alterações físico-químicas.

2.4. Determinação da curva de crescimento de *R. gelatinosus*

2.4.1. Preparo do efluente (substrato)

O efluente foi inicialmente tratado seguindo as seguintes etapas: filtração em filtro rápido de 200 mesh (Gardena 1731) com vazão de 3000 l h⁻¹, para a retirada de partículas grosseiras, desnatamento (desnatadeira Turbinave) com pressão de 2 kgf cm⁻² e vazão de 500 l h⁻¹, para a

remoção da gordura e pasteurização (tanque de pasteurização lenta Incomar) durante 30 minutos a 65°C, para a eliminação de microrganismos competidores do crescimento e agentes patogênicos.

Os parâmetros de filtração, desnatamento e pasteurização do efluente foram padronizados de acordo com as análises microbiológicas e físico-químicas do resíduo *in natura* e após o tratamento. As análises microbiológicas realizadas para verificar a eficiência dos processamentos térmicos incluíram as seguintes análises: contagem global (CG), contagem de coliformes totais (CT) e coliformes fecais (CF), contagem de bolores e leveduras (BL), contagem de *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella* sp (Vanderzant and Splittstoesser, 1992). As análises físico-químicas para a verificação das operações de tratamento do efluente abrangeram: medida de pH, sólidos totais, turbidez, óleos e gorduras (Standard, 1998).

2.4.2. Preparo do inóculo

Uma alçada de uma cultura de *R. gelatinosus* proveniente de meio de Pfennig semi-sólido foi transferida para um tubo de ensaio de 30 ml contendo o mesmo meio na forma líquida, que foi mantido sob anaerobiose, a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e luminosidade de 1.400 ± 200 lux, durante 10 dias. Este cultivo foi utilizado como inóculo para a determinação das curvas de crescimento da bactéria no efluente (absorvância x tempo e peso seco x tempo) e no meio sintético de Pfennig (absorvância x tempo).

2.4.3. Preparo da curva de crescimento

Para a determinação das curvas de crescimento da bactéria, 1% (v/v) do inóculo preparado foi transferido para 10 tubos de ensaio de 30 ml com tampas de rosca. Estes tubos foram mantidos sob anaerobiose, a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e 1.400 ± 200 lux, durante 10 dias. Nesse período, a cada dia, o conteúdo de um tubo de ensaio foi utilizado para a leitura óptica em absorvância a 600 nm em espectrofotômetro (Femto 432) e para a determinação da densidade bacteriana por gravimetria. Para a determinação gravimétrica, cinco ml das amostras dos tubos de ensaio foram centrifugados (centrífuga Revan 5500 A) a 3000 rpm, durante 20 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e, ao resíduo restante, foram adicionados cinco ml de água destilada para promover uma ressuspensão. O novo conteúdo foi centrifugado a 3000 rpm, durante 20 minutos e, após a centrifugação, o sobrenadante foi novamente descartado. Cinco ml de água destilada foram adicionados ao resíduo final e, após a homogeneização, todo este volume foi transferido para cadinhos de porcelana livres de umidade e de pesos conhecidos, e mantidos em estufa a 105°C até a obtenção de peso constante.

2.5. Determinação da produtividade do processo de obtenção da biomassa de *R. gelatinosus*

2.5.1. Preparo do cultivo

Um inóculo de *R. gelatinosus* preparado inicialmente em meio de Pfennig (conforme citado anteriormente) foi adicionado com 1% (v/v) a 100 l do efluente tratado. O cultivo foi realizado em colunas de vidro sob temperatura ambiente ($30 \pm 2^\circ\text{C}$), luminosidade fornecida pela luz do dia e por lâmpadas incandescentes (100 W) e fluorescentes (40 W), durante 10 dias.

2.5.2. Preparo da biomassa

O cultivo foi concentrado por meio de microfiltração em sistema com unidade de filtração de 0.75 m², porosidade de 0.2 micra, vazão de 1.5 m³ h⁻¹ e pressão de 1.5 bar (Frings). Em seguida, o retentado obtido foi centrifugado (centrífuga Beckman J 6M) com velocidade de 4.200 rpm durante 20 minutos a 10°C. O permeado foi descartado e o resíduo obtido foi congelado e submetido à liofilização (liofilizador Liobras L 101) a -40°C durante 24 horas, até dar origem a uma biomassa em forma de pó, de cor púrpura avermelhada.

2.5.3. Produtividade do processo de obtenção de biomassa

A produtividade do processo de obtenção foi obtida de acordo com Aiba (1982) através da fórmula:

$$\text{Produtividade} = \text{g de biomassa (massa seca) l}^{-1} \text{ d}^{-1}$$

2.6. Determinação da capacidade despoluente do processo de obtenção de biomassa de *R. gelatinosus*

A capacidade despoluente do cultivo da bactéria fotossintetizante *R. gelatinosus* foi medida através da análise de Demanda Química de Oxigênio (DQO) pelo método da oxidação do ácido cromossulfúrico (COD cell test - Merck) no substrato cru e no permeado gerado pelo processo de microfiltração do cultivo.

3. Resultados e Discussão

3.1. Análises microbiológicas e físico-químicas do substrato *in natura* e após tratamento

Os resultados das análises microbiológicas e físico-químicas do substrato *in natura* e após tratamento podem ser visualizados nas Tab. 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 - Análises microbiológicas do efluente *in natura* e após tratamento

	Contagem global UFC/ml	Coliformes totais UFC/ml	Coliformes fecais UFC/ml	Bolores e Leveduras UFC/ml	<i>Salmonella</i> sp (em 25g)	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>
Substrato <i>in natura</i>	1.9×10^{11}	1.1×10^{10}	$> 1.1 \times 10^{10}$	2.7×10^6	ausência	negativo
Substrato tratado (60, 65 e 75°C), respectivamente	<1.0 <1.0 <1.0	3.6×10^4 zero zero	zero zero zero	5.0×10^1 <1.0 <1.0	ausência	negativo

Tabela 2 - Análises físico-químicas do efluente *in natura* e após tratamento

	pH	Sólidos totais (mg l ⁻¹)	Turbidez (UT)	Óleos e gorduras (mg l ⁻¹)
Substrato <i>in natura</i>	5.5	1.872	85	2.56×10^3
Substrato tratado	6.8	1.036	55	278

Com base nos resultados das análises microbiológicas, encontrados na Tab. 1, o parâmetro de pasteurização escolhido como ideal foi de 65°C/30 minutos. O cultivo realizado no efluente tratado dessa maneira apresentou coloração vermelho acastanhado, cor característica resultante do desenvolvimento de *R. gelatinosus* e produção de pigmentos, o que indica sua capacidade de crescimento frente a competidores que possam ter restado após o processo térmico, bem como a preservação de nutrientes necessários ao metabolismo da bactéria. De acordo com os resultados das análises físico-químicas apresentados na Tab. 2, houve uma diminuição dos sólidos totais, da turbidez e de óleos e gorduras e um aumento de pH em decorrência do tratamento aplicado ao efluente. É possível observar que o tratamento realizado contribuiu para a redução de partículas sólidas, fornecendo um substrato mais límpido, facilitando a passagem de luz para o crescimento da bactéria fotossintetizante *R. gelatinosus*. O aumento de pH pode ser explicado pelo processo adequado de desnatamento que provocou a remoção da gordura (ácidos graxos), além da eficiência da pasteurização que possibilitou a eliminação de microrganismos como bolores e leveduras, normalmente encontrados em ambientes ácidos. Pode-se dizer que as análises microbiológicas e físico-químicas indicaram um tratamento do resíduo adequado para o crescimento do microrganismo (Paulino et al., 2005).

3.2. Determinação da curva de crescimento de *R. gelatinosus*

Na curva de crescimento de *R. gelatinosus* em que o substrato utilizado foi o efluente tratado (Fig. 1), não se observa a presença da fase de adaptação (lag). Este comportamento pode ser explicado devido à capacidade da bactéria em utilizar-se rapidamente dos nutrientes presentes no efluente tratado, sendo estes suficientes para o crescimento do microrganismo, tornando desnecessária a presença da fase lag normalmente encontrada em crescimentos bacterianos. Além

disso, os processos de tratamento do substrato como o desnatamento, a filtração e a pasteurização utilizados neste trabalho mostraram-se adequados, pois preservaram os nutrientes necessários para o crescimento microbiano. Da mesma forma, estudos realizados por Azad et al. (2003) indicaram que a remoção de partículas sólidas no resíduo de processamento de sardinhas não alterou os nutrientes essenciais nem afetou o crescimento de *Rhodovulum sulfidophilum* no substrato.

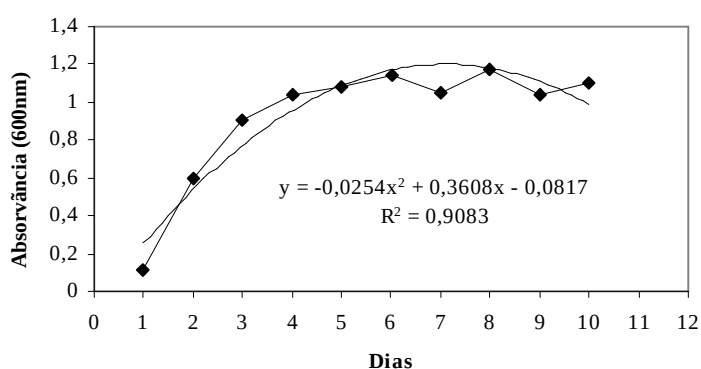


Figura 1. Curva de crescimento de *R. gelatinosus* em efluente de abatedouro avícola

Na curva de crescimento de *R. gelatinosus* em meio sintético Pfennig (Fig. 3), observa-se a presença da fase de adaptação da bactéria ao meio de cultura e o consequente aumento dos dias de cultivo para a adaptação e crescimento da bactéria. Considerando que *R. gelatinosus* é encontrada naturalmente em ambiente de efluente de abatedouro avícola, pode-se dizer que ocorre uma maior adaptação e crescimento da bactéria neste substrato quando comparados ao crescimento em meio sintético apenas (Ponsano et al., 2003).

Na curva de crescimento de *R. gelatinosus* (peso seco x tempo), utilizando-se o efluente tratado como substrato (Fig. 2), o crescimento medido por meio do valor de peso seco (g l^{-1}) da célula bacteriana apresentou resultado semelhante quando comparado aos valores de absorvância

(Fig. 1), o que comprova a eficiência da metodologia empregada, além da capacidade da bactéria em crescer sob as condições descritas no efluente tratado.

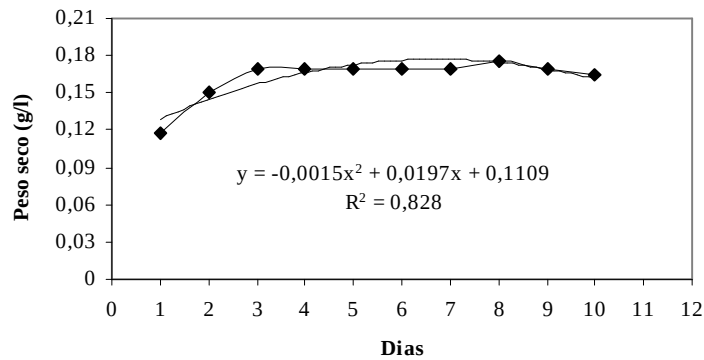


Figura 2. Curva de crescimento de *R. gelatinosus* em efluente de abatedouro avícola

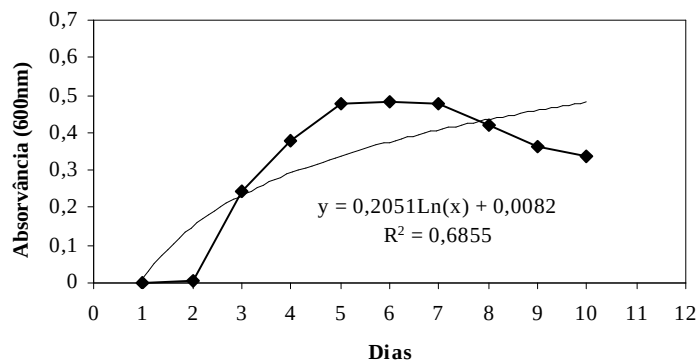


Figura 3. Curva de crescimento de *R. gelatinosus* em meio de Pfennig

O crescimento de *R. gelatinosus* em efluente avícola apresentou pico máximo ao redor do oitavo dia com valores de absorvância e peso seco iguais a 1.177 e 0.18 g l⁻¹, respectivamente (Fig. 1 e 2). No inóculo utilizando apenas meio de Pfennig, *R. gelatinosus* apresentou estabilidade de crescimento entre o 5º e o 7º dia, com valor médio de absorvância de 0.478 (Fig. 3). Não foi possível realizar a curva de crescimento de *R. gelatinosus* com valores de peso seco no meio de Pfennig

devido ao menor crescimento microbiano apresentado pela bactéria nesse substrato quando comparado ao efluente de abatedouro avícola.

Azad et al. (2003) utilizou a bactéria fototrófica *Rhodovulum sulfidophilum* em efluente de processamento de sardinha objetivando a produção de biomassa. Os valores de biomassa (g l^{-1}) foram apresentados em níveis de 10, 20 e 30% de inóculo sob duas condições de cultivo bacteriano: em efluente de sardinha + meio de glutamato (GMM) e somente no efluente. A primeira condição apresentou maiores valores de biomassa após 3 dias de cultivo e, em nenhuma delas foi possível observar a presença da fase lag (Azad et al., 2003). Neste estudo, o autor pôde concluir que o crescimento da bactéria desenvolvido no efluente de processamento de sardinha era mais expressivo quando o inóculo era preparado em GMM do que quando recebia o inóculo preparado com o próprio resíduo.

Getha et al. (1998) mencionou o crescimento da bactéria fototrófica púrpura não sulfurosa *Rhodopseudomonas palustris* em efluente de processamento de sagu na proporção 50% (v/v) efluente/meio de cultura e encontrou uma produção de biomassa de 2.5 g l^{-1} observada após 4 dias de cultivo. Prasertsan et al. (1997), inoculando a bactéria fotossintetizante *Rhodocyclus gelatinosus* em efluente de pescado em nível 10% (v/v), sob anaerobiose e luminosidade de 3.000 lux, obteve uma produção de 6.4 g l^{-1} de biomassa. Em estudos apresentados por Takeno et al. (1999), a bactéria fotossintetizante *Rhodobacter sphaeroides* IL 106 cultivada em águas residuárias provenientes da produção de ostras gerou uma produção de 3.32 g l^{-1} de biomassa, contendo carotenóides e ubiquinona, após 4 dias de cultivo.

Comparando os valores de biomassa encontrados neste experimento com os citados por diferentes autores, pode-se dizer que a produção de massa celular em peso seco (g l^{-1}) apresenta valores distintos de crescimento em diversos substratos e diferentes condições de cultivo nos microrganismos fototróficos.

3.3.Determinação da produtividade de obtenção da biomassa de *R. gelatinosus*

A partir de 100 litros de resíduo de abatedouro avícola, a produtividade do processo de obtenção de biomassa de *R. gelatinosus* alcançou um valor de 0.085 g de biomassa (massa seca) l⁻¹ d⁻¹.

A produtividade, apesar de baixa, foi maior do que a encontrada por Ponsano (2000) que observou uma produtividade de 0.063 g de biomassa (massa seca) l⁻¹ d⁻¹ pela bactéria *R. gelatinosus* em resíduo avícola sem a utilização do sistema de microfiltração. A introdução do sistema de microfiltração neste estudo promoveu uma concentração da amostra com uma melhor recuperação de biomassa, possibilitando o aumento da produtividade do processo utilizado e, além disso, tornou-se um aspecto diferencial no quesito produtividade quando comparado ao estudo realizado por Ponsano (2000).

Zheng et al. (2005), utilizando a levedura *C. utilis* OZ 993 em resíduo de óleo de salada para produção de biomassa como origem protéica para utilização em ração, observou uma produtividade de 0.96 kg biomassa kg⁻¹ óleo⁻¹ d⁻¹. *C. utilis* é freqüentemente cultivada em resíduos de processamentos industriais para a produção de biomassa microbiana devido à capacidade de utilizar rapidamente compostos de carbono (Zheng et al., 2005). Cultivos da microalga *Scenedesmus obliquus* realizados sob controle de ciclos simulados de luz e temperatura em resíduo de água residuária artificial produzido em laboratório através da adição de nutrientes químicos alcançaram uma produtividade de biomassa de 39.3 e 25.2 mg l⁻¹ d⁻¹ nas diluições de 30 e 40%, respectivamente, em estudos realizados por Voltolina et al. (2005).

A partir dos resultados apresentados, pode-se inferir que a produtividade do processo de obtenção de biomassa de *C. utilis* é mais expressiva do que a produzida do processo descrito neste estudo, enquanto que a microalga *Scenedesmus obliquus* demonstra o inverso. Pode-se dizer que a

capacidade de produção de biomassa varia entre os microrganismos, e que as bactérias fotossintetizantes possuem um metabolismo com menor capacidade de produção de biomassa (Balloni et al., 1982).

Um outro fator capaz de influenciar a produtividade de obtenção da biomassa em microrganismos fototróficos é a intensidade luminosa (Bhosale, 2004). Bhosale (2004) exemplifica a levedura *Rhodotorula glutinis* como um microrganismo capaz de promover uma maior produção de carotenóides e um maior crescimento com a elevação da intensidade luminosa.

3.4. Determinação da capacidade despoluente de *R. gelatinosus*

O cultivo de *R. gelatinosus* em nível de 1% (v/v) inóculo/efluente tratado, possibilitou uma redução de 91% de DQO no efluente de abatedouro avícola.

Cultivos preparados com inóculo de 10% (v/v) de *Rhodopseudomonas palustris* em meio sintético/resíduo sagu promoveram uma redução de 77% na DQO do efluente de sagu (Getha et al., 1998). Estudos realizados por Prasertsan et al. (1997) utilizando a bactéria *R. gelatinosus* em efluente de pescado observaram uma redução de 66% e 46% na DQO depois de 5 e 7 dias, respectivamente. Sob diferentes condições de cultivo, *Rhodovulum sulfidophilum* cultivada em resíduo de processamento de sardinha com inóculo de 15% (v/v), apresentou uma redução de 76 e 68% na DQO aerobicamente no escuro e anaerobicamente na presença de luz, respectivamente. Sob condições aeróbicas no escuro com inóculo de 15% (v/v) a 200, 300 e 400 rpm de agitação, a redução de DQO foi de 78, 69 e 73%, respectivamente (Azad et al., 2001).

Choorit et al. (2002), para promover crescimento bacteriano com uma maior redução de DQO no resíduo de processamento de látex, misturou culturas de bactérias púrpuras não sulfurosas e obteve redução de 57% de DQO após 40 horas de cultivo com culturas mistas, enquanto que, com

culturas isoladas, havia conseguido uma redução na faixa de 20-33%. Uma significativa diminuição de conteúdos poluentes foi observada quando Safonova et al. (2004) utilizou combinação de alga-bactéria para o biotratamento de resíduos industriais, obtendo uma redução de 51% da DQO. Estes resultados foram comparativamente menores do que o promovido por *R. gelatinosus* neste estudo. Além disso, a proporção de inóculo utilizada (1%) neste trabalho foi menor do que a dos trabalhos apresentados dentro desse contexto.

A utilização da biomassa de *R. gelatinosus* para a promoção da pigmentação de produtos de avicultura poderá torná-los mais atrativos para o consumidor, possibilitando a substituição dos pigmentos sintéticos normalmente utilizados. Além disso, o cultivo da bactéria pode ser proposto como uma alternativa para o tratamento despoluente nas indústrias avícolas geradoras de resíduos aquosos industriais.

4. Conclusão

O tratamento do efluente mostrou-se adequado para o crescimento de *Rubrivivax gelatinosus* no substrato. A curva de crescimento da bactéria no substrato tratado indicou maior crescimento celular no oitavo dia de cultivo. Os valores de produtividade alcançados foram compatíveis com o esperado para o crescimento de bactérias. O processo de cultivo realizado foi capaz de promover a redução da carga poluente do resíduo de abatedouro avícola.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesp pelo financiamento (03/06786-4), a Universidade Estadual Paulista - Unesp – pela formação acadêmica e a empresa Frango Sertanejo de Guapiaçu-SP pelo fornecimento do resíduo.

Referências

- Aiba, S., 1982. Growth kinetics of photosynthetic microorganisms. *Adv. Biochem. Eng.* 23, 85-156.
- Azad, S.A., Vikineswary, S., Ramachandran, K.B., Chong, V.C., Ramachandran, K.B., 2001. Growth e production of biomass *Rhodovulum sulfidophilum* in sardine processing wastewater. *Letters in Applied Microbiology*. 33, 264-268.
- Azad, S.A., Vikineswary, S., Chong, V.C., Ramachandran, K.B., 2003. *Rhodovulum sulfidophilum* in the treatment and utilization of sardine processing wastewater. *Letters in Applied Microbiology*. 38, 13-18.
- Azevedo, J.L., 1998. Biodiversidade microbiana e potencial biotecnológico. In: Melo, I.S.; Azevedo, J.L. (Ed.), *Ecologia Microbiana*. Embrapa CNPMA., Jaguariúna, pp. 445-461.
- Balloni, W., Materassi, R., Filpi, C., Sili, M., Vincenzini, A. E., Florenzano, G., 1982. *Il metodo di trattamento a batteri fotosintetici delle acque di scarico*. Firenze: Progetto Finalizzato CNR Promocione della Qualità dell' Ambiente.
- Bhosale, P., 2004. Environmental and cultural stimulants in the production of carotenoids from microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63, 351-361.
- Cardoso, A.L.S.P., Tessari, E.N.C., Castro, A.G.M., Kanashiro, A.M.I., Zanatta, G.F., 2003. Incidência de Coliformes e *Salmonella* sp em água proveniente de abatedouro avícola. *Higiene Alimentar*. 17 (111), 73-78.
- Chávez, P.C., Castilho, L.R., Dendooven, L., Escamilla-Silva, E.M., 2005. Poultry slaughter wastewater treatment with an up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Bioresource Technology*. 96, 1730-1736.
- Choorit, W., Thanakoset, P., Thongpradistha, J., Sasaki, K., Noparatnaraporn, N., 2002. Identification and cultivation of photosynthetic bacteria in wastewater from a concentrated latex processing factory. *Biotechnology Letters*. 24, 1055-1058.

- Eraso, J.M., Kaplan, S., 2006. Photoautotrophy. Encyclopedia of Life Sciences. Itercience.
- Gavrilescu, M., Chisti, Y., 2005. Biotechnology sustainable alternative for chemical industry. *Biotechnology Advances*. 23, 471-499.
- Getha, K., Vikineswary, S., Chong, V.C., 1998. Isolation and growth of the phototrophic bacterium *Rhodopseudomonas palustris* strain B1 in sago-starch-processing wastewater. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 14(4), 505-511.
- Imhoff, J.F., 1992. Taxonomy, phylogeny and general ecology of anoxygenic phototrophic bacteria. In: Mann, N.H., Carr, N.G. (Ed.), *Photosynthetic Prokaryotes*. Plenum Press., New York, pp. 53-92.
- Lee, P.C., Schmidt-Dannert, C., 2002. Metabolic engineering towards biotechnological production of carotenoids in microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60, 1-11.
- Paulino, C. Z., Ponsano, E. H. G., Pinto, M. F. Determinação dos parâmetros de pasteurização do efluente de abatedouro avícola para ser utilizado como substrato por *Rhodocyclus gelatinosus*. V Semana de divulgação científica. Unesp- Araçatuba. p.59.
- Pfennig, N., 1974. *Rhodopseudomonas globiformis*, sp. n., a new species of the *Rhodospirillaceae*. *Arch. Microbiol.*, 10, 197-206.
- Ponsano, E.H.G., 2000. Avaliação da capacidade pigmentante de biomassa de *Rhodocyclus gelatinosus* em frangos de corte. PhD Thesis, Chemistry Institute, UNESP, Araraquara, Brazil.
- Ponsano, E.H.G., Lacava, P.M., Pinto, M.F., 2003. Chemical compositions of *Rhodocyclus gelatinosus* biomass produced in poultry slaughterhouse wastewater. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 46(2), 143-147.
- Prasertsan, P., Jaturapornpipat, M., Siripatana, C., 1997. Utilization and treatment of tune condensate by photosynthetic bacteria. *Pure and Applied Chemistry*. 69, 2439-2445.
- Safonova, E., Kvitko, K.V., Iankevitch, M.I., Surgko, L.F., Afti, I.A., Reisser, W., 2004. Biotreatment of industrial wastewater by selected algal-bacterial consortia. *Engineering in Life sciences*. 4(4), 347-353.
- Standard methods for the examination of water and wastewater. 20 th. Ed. Washington: APHA, 1998. 1v.
- Takeno, K., Sasaki, K., Watanabe, M., Kaneyasu, T., Nishio, N., 1999. Removal of phosphorus from oyster farm mud sediment using a photosynthetic bacterium, *Rhodobacter sphaeroides* IL 106. *J. Biosci. Bioeng.* 88 (4), 410-415.
- Vanderzant, C., Splittstoesser, D. F., 1992. Compendium of methods for the microbiological of foods. (Ed), 3. ed. American Public Health Association., Washington, 1291p.

Voltolina, D., Gómez-Villa, H., Correa, G., 2005. Nitrogen removal and recycling by *Scenedesmus obliquus* in semicontinuous cultures using artificial wastewater and a simulated light and temperature cycle. *Bioresource Technology*. 96, 359-362.

Zheng, S., Yang, M., Yang, Z., 2005. Biomass production of yeast isolate from salad oil manufacturing wastewater. *Bioresource Technology*. 96, 1183-1187.