



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA SUL-RIO-GRANDENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
CIÊNCIAS AMBIENTAIS**



GUSTAVO WALTZER FEHRENBACH

**PRÉ-TRATAMENTO ENZIMÁTICO E CULTIVO de *Saccharomyces cerevisiae*
PARA REMOÇÃO DE NUTRIENTES EM EFLUENTE DA PARBOILIZAÇÃO DO
ARROZ**

**Pelotas
2020**

GUSTAVO WALTZER FEHRENBACH

**PRÉ-TRATAMENTO ENZIMÁTICO E CULTIVO de *Saccharomyces cerevisiae*
PARA REMOÇÃO DE NUTRIENTES EM EFLUENTE DA PARBOILIZAÇÃO DO
ARROZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharias e Ciências Ambientais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-grandense, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Diego Gil de los Santos

Coorientador: Fábio Pereira Leivas Leite

**Pelotas
2020**

F296p Fehrenbach, Gustavo Waltzer
Pré-tratamento enzimático e cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* para remoção de nutrientes em efluente da parboilização do arroz / Gustavo Waltzer Fehrenbach. - 2020.
54 f. : il. color.

Orientador: Prof. Dr. Diego Gil de Los Santos; Coorientador: Prof. Dr. Fábio Pereira Leivas Leite.

Dissertação (mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais, Mestrado Profissional em Engenharia e Ciências Ambientais, Pelotas, 2020.

Inclui artigo

1. Engenharia. 2. Tratamento de efluente. 3. Biorremediação. 4. Biomassa. 5. Enzimas I. Los Santos, Diego Gil de. II. Leite, Fábio Pereira Leivas. III. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense - IFSul. IV. Título.

CDD 628

Catálogo na publicação:
Bibliotecária Rosana Machado Azambuja CRB10/1576
Biblioteca IFSul - Câmpus Pelotas

GUSTAVO WALTZER FEHRENBACH

**PRÉ-TRATAMENTO ENZIMÁTICO E CULTIVO de *Saccharomyces cerevisiae*
PARA REMOÇÃO DE NUTRIENTES EM EFLUENTE DA PARBOILIZAÇÃO DO
ARROZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharias e Ciências Ambientais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-grandense, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Dissertação defendida e aprovada em:

Banca examinadora:

Prof. Dr. Diego Gil de Los Santos
Orientador
IFSUL

Prof. Dr. Fábio Pereira Leivas Leite
Coorientador
UFPEL

Prof. Dr. Michel Gerber
IFSUL

Prof. Dr. Walter Augusto Ruiz
FURG

Prof. Dr. Daniel Arsand
IFSUL

Mãe, Pai, Rafa, Hilda e família – *meu coração está sempre com vocês* – obrigado Senhor pelo zelo e condução;

AGRADECIMENTO

Agradeço ao meu orientador Diego Gil e coorientador Fábio Leivas Leite por acreditarem que esse trabalho poderia ser realizado, visto a complexidade da rotina de aulas, dois mestrados e experimentos, e ainda assim nunca deixando que a criatividade e liberdade de pensar fossem esquecidas nesse atribulado caminho.

Professor Daniel Arsand, meu orientador e amigo desde as primeiras aulas na Gestão Ambiental. É uma honra poder contar com teu aconselhamento e apoio.

Aos meus colegas pela parceria e por compartilharem uma porção relevante de suas noites em inúmeras aulas, principalmente a *turma do buraco*. Monise e Vanderléia, pela nossa aproximação em tempos complicados, que com toda certeza renderam amizades e laços eternos.

Gratidão à ti, pela recuperação do meu pai e por escutar minhas orações. A presença e companhia da minha família; meus amados afilhados Theodoro, Antônia e Laura que enchem meu coração.

*You're all that I have and you're all that I need
Each and every day I pray to get to know you please
I want to be close to you, yes I'm so hungry
You're like water for my soul when it gets thirsty
Without you there's no me
You're the air that I breathe
Sometimes the world is dark and I just can't see
With these, demons surround all around to bring me down to negativity
But I believe, yes I believe, I said I believe
I'll stand on my own two feet
Won't be brought down on one knee
Fight with all of my might and get these demons to flee
Hashem's rays fire blaze burn bright and I believe
Out of darkness comes light, twilight unto the heights
Said, thank you to my God, now I finally got it right
And I'll fight with all of my heart, and all a' my soul, and all a' my might
King Without a Crown - Matisyahu*

RESUMO

O arroz é um cereal de elevada produção em volume e importância socioeconômica. O Brasil é um dos principais produtores com produção média anual de 10,56 milhões de toneladas. A produção de arroz parboilizado é um processo de beneficiamento que confere maior valor nutritivo ao produto através de etapas de cozimento e secagem. Neste processo é gerado o efluente da parboilização (EP) com elevados níveis de matéria orgânica, fósforo e nitrogênio. A complexidade do EP dificulta a adequação na estação de tratamento de efluentes, e caso o efluente seja lançado aos corpos receptores em concentrações superiores às estabelecidas pelo CONSEMA, pode ocasionar a redução da biodiversidade aquática e mortalidade de peixes. O uso de tratamento biológico com leveduras é uma alternativa para auxiliar os sistemas atuais de tratamento e potencial geração de biomassa comercializável como co-produto. Neste trabalho avalia-se o potencial da α -amilase no pré-tratamento enzimático do efluente da parboilização do arroz para o cultivo e potencial bioremediador da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. As condições do pré-tratamento enzimático foram definidas através de planejamento fatorial 2^3 sendo as variáveis estudadas o pH (5,5, 6 e 6,5), temperatura (40, 50 e 60°C) e tempo de incubação (5, 12,5 e 20 min); a concentração enzimática foi avaliada em 5 níveis (100, 50, 10, 5 e 0,5 mg L⁻¹) utilizando α -amilase fúngica de 40.000 SKB. A concentração de glicose obtida nos ensaios, custos e adequação as condições ótimas para cultivo de *S. cerevisiae* foram consideradas na definição do tratamento. A reação enzimática foi realizada em frascos com 4 L de efluente da parboilização não autoclavado, 5 mg L⁻¹ de α -amilase, 12,5 min a 50°C. Cultivos em EP foram diretamente inoculados com *S. cerevisiae* e utilizados como controle. Ambos os sistemas foram inoculados com 10% v/v de *S. cerevisiae* a $1,2 \times 10^3$ unidades formadoras de colônias por mL (UFC mL⁻¹) e cultivados por 48 h. Ao longo do tempo efetuou-se coletas para avaliar a viabilidade celular (UFC mL⁻¹), biomassa (g), demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) e concentração de fósforo (P). A reação enzimática em efluente parboilizado com amilase (EPA) foi determinada quantificando a concentração de glicose através da reação com ácido dinitrosalicílico (DNS), atingindo uma concentração máxima de 1,75 g L⁻¹ em EPA e 1,05 g L⁻¹ em EP. UFC e biomassa em EPA seguiram os níveis de glicose e foram superiores em relação EP, atingindo $2,4 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ e 2,05 g L⁻¹. As maiores remoções foram obtidas em EPA para fósforo (40,68%), EP para matéria

orgânica (70%) e remoção >99% do nitrogênio total em ambos cultivos. O baixo custo de 0,45\$ por m³ de efluente tratado, redução dos parâmetros ambientais de tratabilidade, viabilidade celular ($3,35 \times 10^8$ UFC mL⁻¹) e concentração de biomassa (2,05 g L⁻¹) sugerem que a utilização de α -amilase aprimora o potencial de biorremediação de *S. cerevisiae* no tratamento de efluente parboilizado, além de gerar um co-produto de alto valor e amplamente comercializável.

Palavras-Chave: tratamento de efluente, biorremediação, biomassa, amido, *S. cerevisiae*, enzimas

ABSTRACT

Rice is a cereal with high production in volume and socioeconomic importance. Brazil is one of the main producers with an average annual production of 10.56 million tons. The production of parboiled rice is a beneficiation process that gives greater nutritional value to the product through cooking and drying steps. In this process, the parboilization (PE) effluent with high levels of organic matter, phosphorus and nitrogen is generated. The complexity of the PE makes it difficult to adjust the effluent treatment station, and if the effluent is released to the receiving bodies in concentrations higher than those established by CONSEMA, it can cause the reduction of aquatic biodiversity and fish mortality. The use of biological yeast treatment is an alternative to assist current treatment systems and potential generation of marketable biomass as a co-product. In this work, the potential of α -amylase in the enzymatic pre-treatment of the rice parboiling effluent for the cultivation and bioremediation potential of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* is evaluated. The conditions of the enzymatic pre-treatment were defined through factorial planning 2^3 and the variables studied were pH (5.5, 6 and 6.5), temperature (40, 50 and 60°C) and incubation time (5, 12, 15 and 20 min); the enzymatic concentration was evaluated at 5 levels (100, 50, 10, 5 and 0.5 mg L⁻¹) using fungal α -amylase of 40,000 SKB. The glucose concentration obtained in the tests, costs and adequacy to the optimal conditions for the cultivation of *S. cerevisiae* were considered in the treatment definition. The enzymatic reaction was carried out in flasks with 4 L of non-autoclaved parboilization effluent, 5 mg L⁻¹ of α -amylase, 12.5 min at 50°C. PE cultures were directly inoculated with *S. cerevisiae* and used as a control. Both systems were inoculated with 10% v/v of *S. cerevisiae* at 1.2×10^3 colony-forming units per mL (CFU mL⁻¹) and cultured for 48 h. Samples were collected over time to assess cell viability (CFU mL⁻¹), biomass (g), chemical oxygen demand (COD), total nitrogen Kjeldahl (TKN) and phosphorus concentration (P). The enzymatic reaction in parboiled amylose effluent (PEA) was determined by quantifying the glucose concentration through the reaction with dinitrosalicylic acid (DNS), reaching a maximum concentration of 1.75 g L⁻¹ in PEA and 1.05 g L⁻¹ in PE. CFU and PEA biomass followed glucose levels and were higher than PE, reaching 2.4×10^8 CFU mL⁻¹ and 2.05 g L⁻¹. The largest removals were obtained in PEA for phosphorus (40.68%), PE for organic matter (70%) and removal >99% of total nitrogen in both cultures. The low cost of 0.45\$ per m³ of treated effluent, reduced environmental parameters for

treatability, cell viability (3.35×10^8 CFU mL⁻¹) and biomass concentration (2.05 g L⁻¹) suggest that the use of α -amylase improves the bioremediation potential of *S. cerevisiae* in the treatment of parboiled effluent, in addition to generating a high-value and widely marketable co-product.

Keywords: effluent treatment, bioremediation, biomass, starch, *S. cerevisiae*, enzymes

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo da reação enzimática.....	22
Figura 2: Composição do amido. Estrutura química dos polímeros amilose e amilopectina que formam a estrutura do amido.	25
Figura 3: Delineamento experimental.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: P, NTK e DQO em efluente da parboilização do arroz.	20
Tabela 2: Limites de emissão estabelecidos para DBO ₅ , DQO, fósforo total e nitrogênio amoniacal por faixa de vazão de efluente.	21
Tabela 3: Aplicações de enzimas bacterianas na indústria de alimentos.	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EP: Efluente da parboilização

EPA: Efluente da parboilização com amilase

CONSEMA: Conselho Estadual do Meio Ambiente

P: Fósforo (mg L^{-1})

NTK: Nitrogênio total Kjeldahl (mg L^{-1})

DQO: Demanda química de oxigênio (mg L^{-1})

DNS: Ácido 3,5-dinitrosalicílico

UFC: Unidade formadora de colônia

PE: Parboiled effluent

PEA: Parboiled effluent with amylase

TKN: Total Kjeldahl nitrogen (mg L^{-1})

COD: Chemical oxygen demand (mg L^{-1})

CFU: Cell forming unit

SKB: gramas de amido dextrinizado por grama de amilase em uma hora

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Arroz parboilizado e efluente	18
2.2 Enzimas	22
2.3 Leveduras	26
2.4 Leveduras no tratamento de efluentes	27
REFERÊNCIAS	29
DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	36
CONSIDERAÇÕES FINAIS	38

INTRODUÇÃO

O arroz é um cereal presente na dieta de diversos países e consumido diariamente por aproximadamente 95% dos brasileiros. Para ser comercializado, o arroz é processado em etapas de beneficiamento, consistindo basicamente na seleção de grãos, lavagem e secagem (NETO, 2015). O arroz parboilizado é um dos produtos da cadeia produtiva de arroz, obtido através do processamento hidrotérmico no qual o arroz em casca é imerso em água a uma temperatura superior a 58°C. Neste processo o amido é parcialmente ou totalmente gelatinizado, favorecendo o transporte e concentração de substâncias hidrossolúveis como vitaminas e minerais no interior do grão, aumentando o valor nutritivo e conservação deste arroz em relação ao polido. Após secagem e brunimento, o arroz parboilizado é disponibilizado na forma de parboilizado polido e/ou parboilizado integral (BALBINOTI *et al.*, 2018).

O processo de parboilização requer elevado volume de água, gerando 1-1,2 L de efluente de alta complexidade por quilograma de arroz processado (KUMAR *et al.*, 2016) e representando um custo relevante frente às outras variedades de arroz comercializadas. O lançamento do efluente da parboilização (EP) em não conformidade com os limites estabelecidos pelo Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA), órgão responsável pela aprovação e acompanhamento da implementação da Política Estadual do Meio Ambiente no Rio Grande do Sul, acarreta na sobrecarga dos corpos hídricos receptores com nutrientes e matéria orgânica, reduzindo os níveis de oxigênio dissolvido e ocasionando a mortandade de seres vivos no meio aquático (FELIPI e ZANOTELI, 2005). Os métodos de remoção de carbono e nitrogênio de efluentes industriais utilizam sistemas de digestões anaeróbias seguidas de nitrificação e desnitrificação, de elevado custo e necessidade de controle (QUEIROZ *et al.*, 2007). Já a remoção de fósforo tem sido realizada por precipitação química (MOHAMMED e SHANSHOOL; 2009), reator anaeróbio de fluxo ascendente (RODRÍGUEZ-GÓMEZ e RENMAN, 2017) e *wetlands* (KADLEC, 2016). O EP apresenta elevadas concentrações de fósforo, nitrogênio e matéria orgânica, sendo o fósforo o parâmetro de maior complexidade no tratamento.

A revisão dos padrões de lançamento de efluentes apresentados na resolução CONSEMA nº 355 (RIO GRANDE DO SUL, 2017) revogando as Resoluções 128/2006, 286/2014 e 317/2017, torna necessário o aprimoramento dos sistemas de tratamento para adequação às novas condições. O tratamento biológico tem sido

amplamente utilizado em acidentes ambientais, efluentes petroquímicos e resíduos industriais complexos, não somente apenas para etapas de polimento em estações de tratamento, mas representando uma alternativa para auxiliar sistemas já empregados (BAHRI *et al.*, 2018).

Leveduras são fungos unicelulares amplamente utilizadas na indústria de alimentos, bebidas e probióticos, e devido a sua versatilidade, a aplicação no tratamento de resíduos vem sendo avaliada (NANDY e SRIVASTAVA, 2018). Além da aplicação direta, o tratamento com leveduras pode ser beneficiado por tratamentos combinados, como a aplicação de biocatalisadores. Fehrenbach (2019), Gaboardi *et al.*, (2018) e Gil de los Santos *et al.*, (2012) reportaram a aplicação de leveduras como agente biorremediador em EP, apresentando elevados níveis de remoção de nutrientes. Em trabalho posterior, Gil de los Santos *et al.*, (2018) reportou o efeito probiótico em codornas da biomassa obtida do tratamento de efluente da parboilização do arroz.

Enzimas são proteínas com atividade catalítica, altamente específicas e possuem o potencial de acelerar reações não espontâneas. Em matrizes complexas, a ação enzimática pode auxiliar no aumento da biodisponibilidade de nutrientes, através de quebras de ligações e simplificação de cadeias carbônicas, assistindo à multiplicação de microrganismos. A enzima α -amilase é encontrada em mamíferos, cereais, fungos e bactérias, atuando na hidrólise de amido e glicogênio (TAKATA *et al.*, 1992). A concentração de amido em arroz parboilizado corresponde a 85% do peso em matéria seca (STORCK, 2004), quantificado como matéria orgânica nos testes de demanda química e bioquímica de oxigênio. O processamento hidrotérmico na parboilização gera altos teores de DQO (GABOARDI *et al.*, 2018) no qual pode existir concentrações de amido no EP, necessitando pré-tratamento com α -amilase para aumentar a sua biodisponibilidade.

A modernização e industrialização dos processos produtivos no setor alimentício permitiram o aumento no volume de produção e qualidade dos produtos. O ganho de produção foi acompanhado da geração de resíduos e efluentes, sendo estes os grandes desafios para a indústria na atualidade, em redução de custos e otimização de processo. Com isso, é necessário o desenvolvimento de tecnologias de tratamento eficientes de forma a acompanhar o crescimento do setor, assegurando a proteção ambiental e dos recursos naturais. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do pré-tratamento enzimático com α -amilase do efluente da parboilização

do arroz para o cultivo e potencial bioremediador da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Arroz parboilizado e efluente

O arroz é um alimento presente na refeição de mais da metade da população mundial, sendo um dos cereais de maior produção em volume e importância econômica. O Brasil é um importante consumidor e produtor, responsável pela produção de 10,56 milhões de toneladas em 2019/2020 (CONAB, 2020), correspondendo a aproximadamente 4% da produção mundial (STATISTA, 2020). Esse cereal possui uma alta diversidade de sementes depositadas no *International Rice Research Institute* que preserva e mantém mais de 117.000 variedades de arroz (DUTTA e MAHABTA, 2014), resultado de seu amplo cultivo em nível mundial. Os produtos obtidos do arroz são destinados à alimentação humana e animal (SUAREZ e GUEVARA, 2018), bebidas alcoólicas (HITTINGER *et al.*, 2018) e produção de probióticos (ZHUANG *et al.*, 2018).

O arroz parboilizado é um dos diversos produtos obtidos da cadeia produtiva do arroz sendo produzido inicialmente para reduzir as perdas na quebra de grão, ocasionadas pelas sucessivas etapas de polimento e limpeza para obtenção do arroz branco. Atualmente, 25% do consumo total de arroz no Brasil corresponde ao arroz parboilizado (PARAGINSKY *et al.*, 2014), impulsionado pelo reconhecimento do valor nutricional e competitividade comercial. O arroz parboilizado é obtido após processamento hidrotérmico do cereal através do qual o amido do grão se gelatiniza possibilitando que vitaminas hidrossolúveis e sais minerais presentes no tegumento e no embrião sejam retidas no interior do endosperma (BALBINOTI *et al.*, 2018). Os grânulos de amido se fundem irreversivelmente após esse processamento, reduzindo a quebra de grão, aumentando a resistência a pragas e estendendo o tempo de comercialização (HEINEMANN *et al.*, 2005; BUGGENHOUT *et al.*, 2013).

Nos engenhos, o processamento do arroz inicia com operações de limpeza e seleção, seguida da parboilização e secagem. Após a remoção de sujidades e padronizar o cereal a ser beneficiado, o arroz é parboilizado pelo encharcamento em autoclaves permitindo que ocorra a gelatinização do grão. A etapa de encharcamento

é responsável pela umectação dos grânulos de amido através da difusão de água no arroz em temperatura que varia entre 58-70°C, sendo este fator determinante nesse processo. A utilização de temperaturas superiores a 60°C contribui para redução de contaminação por bactérias anaeróbias, leveduras e bactérias ácido-láticas (SRIDHAR e MANOHAR, 2003; DUTTA e MAHANTA, 2014). Em função das características de absorção de água, o teor de umectação é um dos fatores controlados e determinantes no tempo do encharcamento de aproximadamente 4 horas necessários para o grão atingir 30% no teor de umidade e ser encaminhado para gelatinização (BALBINOTI *et al.*, 2018). Nos sistemas que utilizam autoclave, o arroz é encaminhado para gelatinização após atingir o teor de umidade e aquecido a 105-120°C em autoclave e pressões de vapor de 0,4 a 1,2 kgg / cm² por 10-30 min. Ao final do processo, o arroz passa por 2 etapas de secagem para permitir o descasque e conservação do produto. Na primeira etapa, a umidade do arroz é reduzida entre 18 a 20% em temperaturas elevadas para redução rápida do elevado teor de umidade pós processamento em autoclave; na segunda etapa a secagem ocorre de forma intercalada em secadores ou por secagem natural, sob temperaturas inferiores a primeira etapa e umidade próxima a 13%. Ao fim do processo, o arroz parboilizado apresenta as trincas e falhas nos grãos soldadas, quebra reduzida e teor nutritivo superior ao arroz polido (HEINEMANN *et al.*, 2005; PAGE, 2018).

O encharcamento do arroz no processo de parboilização representa um ponto crítico de processo do ponto de vista ambiental, utilizando altos volumes de água e gerando um efluente de significativa complexidade (KUMAR *et al.*, 2016). O efluente gerado apresenta elevados níveis de matéria orgânica, comumente expressa na forma de demanda química de oxigênio (DQO); nitrogênio, determinado na forma de nitrogênio amoniacal ou nitrogênio total Kjeldahl (NTK); e fósforo (P), determinado na forma de fosfato solúvel. Queiroz e Koetz (1997) ressaltam que a matéria orgânica, nitrogênio e fósforo são os parâmetros responsáveis pela difícil tratabilidade do efluente. As diferentes configurações de processo utilizadas nas indústrias, assim como, o tempo, período, temperatura e variações no grão (teor de nutrientes, umidade, tempo de armazenamento e sazonalidade) afetam a composição de efluentes, porém, persistindo as elevadas concentrações de P, NTK e DQO independentemente das variáveis anteriormente citadas. Na Tabela 1 é apresentado as concentrações médias de DQO, NTK e P do efluente da parboilização do arroz determinados por diferentes autores.

Tabela 1: P, NTK e DQO em efluente da parboilização do arroz.

Autor	Efluente	Parâmetro			Região
		P (mg L ⁻¹)	NTK (mg L ⁻¹)	DQO (mg L ⁻¹)	
Gaboardi <i>et al.</i> (2018)	Parboilização	87	208	4283	Brasil
Mukherjee <i>et al.</i> (2016)	Parboilização	39	113	1600	África
Abinandan <i>et al.</i> (2015)	Parboilização	360	154	1600	India
Gerber <i>et al.</i> (2016)	Unidade de parboilização com mistura	8,4	23,5	436,3	Brasil
Gil de los Santos <i>et al.</i> (2012)	Parboilização	82	229	6422	Brasil

Além de carbono, nitrogênio e fósforo são os principais nutrientes em requerimento quantitativo para o desenvolvimento de organismos celulares e plantas. Nitrogênio é fundamental na produção de alimentos, sendo um fator limitante devido à importância na síntese de proteínas. O fósforo mesmo presente em altas concentrações no solo (aproximadamente 0,05% dos minerais) e sujeito a diversas reações físico-químicas e biológicas, somente 0,1% encontra-se diretamente disponível para absorção pelas plantas e micro-organismos (ILLMER *et al.*, 1995), devido à sua baixa solubilização e fixação como ocorre com os ortofosfatos através de vias de alta afinidade na epiderme de raízes e fungos (BUCHER, 2007). A forma predominante do fósforo na fração inorgânica é adsorvida em superfícies minerais e na forma orgânica absorvida ou adsorvida em biomassa ou compostos orgânicos do solo. Dessa forma, o fósforo presente no efluente não será diretamente metabolizado quando lançado ao corpo receptor, viabilizando a rápida multiplicação de algas e consequentemente a redução de oxigênio dissolvido. O reuso direto do EP como fertilizante em lavouras ou recuperação de solos também deve ser avaliado com cautela. Gerber *et al.* (2016, 2018) avaliaram a toxicidade do EP em sementes de alface, pepino e zebrafish, identificando toxicidade em sementes de pepino associada

à presença de ferro e manganês e redução da qualidade espermática de zebrafish; impossibilitando a aplicação direta do EP em solos e atestando a toxicidade frente à organismos utilizados como modelo de ensaios toxicológicos.

O tratamento e adequação do efluente da parboilização aos níveis estabelecidos (Tabela 2) pelo Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA) é essencial para proteção dos corpos receptores e operação da indústria, que, diariamente analisa os parâmetros físico-químicos e atualiza a planilha de automonitoramento *online* da Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler (FEPAM). Os padrões de emissão são estabelecidos em função da vazão de efluente e devem atender os valores de concentração ou eficiência mínima de remoção.

Tabela 2: Limites de emissão estabelecidos para DBO₅, DQO, fósforo total e nitrogênio amoniacal por faixa de vazão de efluente.

Faixa de vazão do efluente (m ³ d ⁻¹)	DBO ₅ (mg L ⁻¹)	DQO (mg L ⁻¹)	Fósforo Total (mg L ⁻¹)		Nitrogênio Amoniacal (mg L ⁻¹)
			Concentração (mg L ⁻¹)	Eficiência	
Q < 100	120	330	4	75%	20
100 ≤ Q < 500	110	330	3	75%	20
500 ≤ Q < 1.000	80	300	3	75%	20
1.000 ≤ Q < 3.000	70	260	2	75%	20
3.000 ≤ Q < 7.000	60	200	2	75%	20
7.000 ≤ Q < 10.000	50	180	2	75%	20
10.000 ≤ Q	40	150	1	75%	20

Adaptado da Resolução CONSEMA nº 355/2017 (Rio Grande do Sul, 2017)

O EP é tratado em estações utilizando sistemas de lodo ativado, reatores anaeróbios, precipitação química e *wetlands* (MOHAMMED e SHANSHOOL, 2009; KADLEC, 2016; RODRÍGUEZ-GÓMEZ e RENMAN, 2017). O desenvolvimento de novas tecnologias e métodos de tratamento torna-se interessante para redução de custos com tratamento, além de garantir a adequação aos limites estabelecidos pela legislação e assegurar a proteção ambiental. A utilização de micro-organismos no tratamento de efluentes industriais associada a etapas físico-químicas é realizada com bioreatores de lodo ativado, lagoas, filtros biológicos, fitoremediação e utilização de

enzimas (GREGÓRIO e ERIC, 2019). Egle *et al.* (2016) identificaram os mecanismos de assimilação de fósforo e nitrogênio de bactérias do lodo ativado de estações de tratamento, absorvendo fósforo e convertendo em proteínas, armazenando montantes de ortofosfato nas células na forma insolúvel de polifosfato, sendo esta, a forma majoritária de armazenamento de fósforo nos microrganismos.

2.2 Enzimas

Enzimas são proteínas e ácidos ribonucleicos que apresentam atividade catalítica (biocatalisadores), atuando na diminuição da energia de ativação e regulação de reações bioquímicas. A ação enzimática permite que reações de degradação, transformação de energia química e formação de macromoléculas a partir de precursores simples ocorram de forma regulada e específica (BOYLE, 2005). O grau de especificidade permite que as reações sejam altamente controladas e atuem no substrato com uma sequência específica de aminoácidos de forma a permitir a correta interação deste com a enzima, ainda que reações não específicas possam ocorrer. A região responsável pela interação entre enzima e substrato é denominado sítio ativo (Figura 1). A formação do complexo enzima-substrato ocorre após interação do sítio ativo enzimático com o substrato. Durante este processo, a enzima não é consumida, permitindo que inúmeras catálises sejam realizadas até a redução do seu potencial. As enzimas não alteram o equilíbrio da reação pois não modificam a estrutura e energia dos produtos ou reagentes.

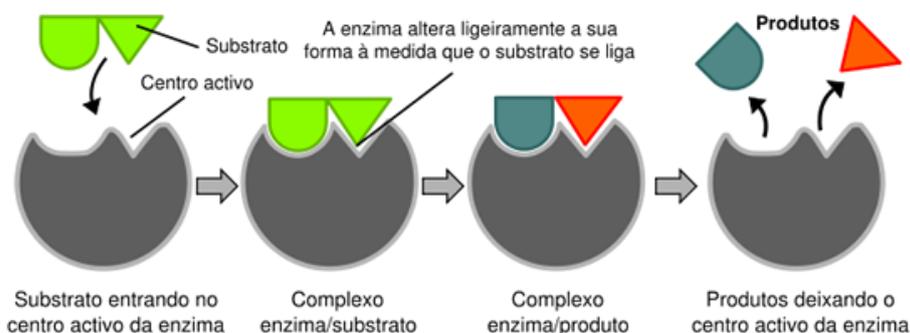


Figura 1: Mecanismo da reação enzimática.
Fonte: www.sóbiologia.com.br. Data de acesso: 02/06/2020

Na ausência de enzimas, reações básicas de oxidação-redução podem não ocorrer em tempo hábil, impossibilitando a manutenção da vida. A EQUAÇÃO 1 apresenta as etapas características de uma reação enzimática.

Equação 1: Reação enzimática. Interação entre enzima e substrato para formação do complexo enzimático e liberação de produto.



A velocidade da reação enzimática é atrelada a dois parâmetros fundamentais: pH e temperatura. Cada enzima apresenta um pH ótimo reacional sendo necessário controlar as variações para evitar a ionização de grupos no substrato e no sítio ativo da enzima, que acabam por reduzir a interação, e conseqüentemente a atividade enzimática. Em condições extremas, a oscilação do pH pode ser irreversível, levando à modificações na conformação e estrutura covalente da proteína (BOYLE, 2005; ROBINSON, 2015). A temperatura está relacionada com a frequência e velocidade das colisões intermoleculares, afetando diretamente a velocidade das reações. A temperatura deve permitir atingir a máxima atividade, aumentando as interações e contato entre substrato e enzima. Após atingir um ótimo, a temperatura elevada pode ocasionar a desnaturação das enzimas ou alterar a sua conformação impedindo ou reduzindo a sua capacidade de ação.

A obtenção de enzimas pode ser através da extração de tecidos animais/vegetais, cultivo de leveduras, bactérias e fungos, que as sintetizam na presença de substratos e condições adequadas. No setor industrial, as enzimas são amplamente utilizadas na produção de detergentes, produtos de limpeza, tratamento de efluentes, adoçantes e modificação de antibióticos (ROBINSON, 2015). Na Tabela 3 listam-se exemplos de enzimas obtidas a partir de cultivo bacteriano, a ação/substrato no qual as mesmas atuam e aplicações destas na indústria de alimentos.

Tabela 3: Aplicações de enzimas bacterianas na indústria de alimentos.

Enzima	Ação/substrato	Aplicação	Referência
Amilase	Ligações glicosídicas α -1,4 em polissacarídeos	Produção de pão, cerveja, quebra de amido, flocos de arroz, clarificação de sucos	Couto e Sanromán, 2006; Maarel, 2002; Ayier, 2005; Kumar, 2015
Protease	Ligações peptídicas em proteínas	Produção de cerveja, amaciamento de carnes, coagulação em leite, melhora da qualidade em leite	Aruna, Shah e Birmole, 2014; Miguel e Marins-Meyer, 2013
Lipase	Triglicerídeos de cadeia longa	Aroma em queijos e produção de queijo <i>cheddar</i>	Jooyendeh, Kaur e Minhas, 2009; Aravindan, Anbumathi e Viruthagiri, 2007
Catalase	Peróxido de hidrogênio	Preservação de alimentos	Ough, 1975
Peroxidase	Compostos orgânicos e inorgânicos; peróxido	Desenvolvimento de aroma, cor e qualidade nutricional em alimentos	Regaldo <i>et al.</i> , 2004

Modificado de RAVEENDRAN *et al.*, 2018

No mercado mundial, as amilases constituem uma classe responsável por aproximadamente 25% das enzimas comercializadas, sendo obtidas de microorganismos, plantas e animais. A amilase atua na catálise da hidrólise de ligações glicosídicas α -1,4 do amido com a retenção da configuração alfa anomérica nos produtos (TAKATA *et al.*, 1992). Os primeiros métodos de hidrólise do amido utilizavam amilases animais ou a hidrólise química. A evolução tecnológica de produção tornou viável a obtenção de amilases fúngicas e bacterianas, as quais possuem maior estabilidade de ação e baixo custo de produção quando comparado as produzidas por animais ou a hidrólise química (de SOUZA e MAGALHÃES, 2010).

Amido é o carboidrato mais comum na alimentação, representando aproximadamente 90% dos carboidratos da dieta humana e obtido em maiores concentrações em vegetais, como: mandioca, milho, arroz, beterraba e todos cereais. Estruturalmente, o amido é composto por amilose e amilopectina, dois polímeros de

glicose ligados por ligações glicosídicas. A amilose (Figura 2a) é um polímero linear de conformação helicoidal de aproximadamente 6000 unidades de glicose com ligações glicosídicas α -1,4, apresentando 6 monômeros de glicose por volta. Essa conformação permite que a amilose complexa iodo, apresentando coloração azul-violeta. Este procedimento é utilizado para detectar a presença de amido em soluções. A amilopectina (Figura 2b) apresenta uma cadeia ramificada sendo majoritariamente ligações α -1,4 e em menor frequência α -1,6, alterando a conformação helicoidal apresentada pelas ligações α -1,4. Em contato com iodo, amilopectina apresenta coloração marrom-avermelhada.

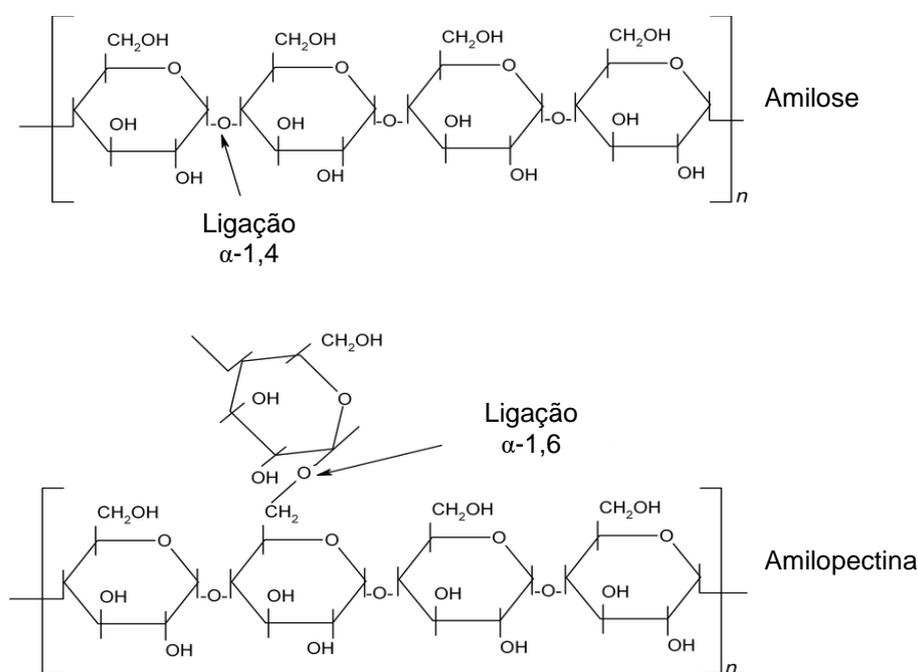


Figura 2: Composição do amido. Estrutura química dos polímeros amilose e amilopectina que formam a estrutura do amido. Modificado de VISAKH (2014).

A concentração de amido em cereais justifica seu uso como fonte de carboidratos, produção de etanol e bebidas alcoólicas (de SOUZA e MAGALHAES, 2010). Analisando a concentração de amido em cinco variedades de arroz, Omar *et al.* (2016) identificaram concentrações de amido de 23 a 92% em cinco variedades de arroz. O processamento hidrotérmico durante a parboilização sugere que uma parcela do amido seja perdida no efluente. A verificação da presença de amido pode ser realizada por método colorimétrico utilizando ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) como agente oxidante (SANTOS *et al.*, 2017). Neste método, açúcares redutores (carboidratos que possuem grupo carbonílico livre) são oxidados em solução alcalina

pelo reagente DNS que é reduzido ao composto corado ácido 3-amino-5-nitrosalicílico de absorção máxima a 540 nm, permitindo determinar as concentrações de hexoses como glicose e frutose (NEGRULESCU *et al.*, 2012).

2.3 Leveduras

As leveduras são fungos unicelulares e eucarióticos amplamente distribuídos na natureza no solo, folhas, flores, água e animais de sangue quente (MARTINI, 1993). Os primeiros organismos eucarióticos a terem o genoma sequenciado permitiram seu uso como modelo eucarioto em diversos estudos (ALBERGHINA e CIRULLI, 2010). A organização celular das leveduras se assemelha a organismos evoluídos, apresentando núcleo separado do citoplasma e propriedades biológicas básicas semelhantes as células humanas. A diversidade provida pela evolução classifica as leveduras nos filos ascomiceto e basidiomiceto, estes formando o sub-reino Dikarya, compreendendo 98% das espécies conhecidas do reino Fungi (KIRK *et al.*, 2008). As leveduras não formam filamentos, são imóveis, aeróbios facultativos e quimio-heterotróficos, se reproduzem por fissão ou brotamento. A habilidade e eficiência na conversão de açúcares em etanol através da fermentação permitiu o amplo uso na indústria alcooleira, fermentação e panificação (OCA *et al.*, 2016).

O cultivo de leveduras em escala laboratorial é realizado em Erlenmeyer, frascos e biorreatores, permitindo o controle eficiente dos parâmetros de cultivo: pH, temperatura, aeração e concentração de nutrientes. O meio de cultivo deve conter os elementos químicos necessários para permitir a multiplicação celular, sendo o carbono, hidrogênio, nitrogênio, fósforo e enxofre os principais elementos químicos assimilados em biomassa de levedura. *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais estudada e explorada, amplamente empregada na fermentação de açúcares do arroz, trigo, cevada, milho e açúcares presentes na farinha para produção de pães. Evidências moleculares em jarras retiradas das tumbas do rei Escorpião I, um dos primeiros reis do Egito, datam o uso de *S. cerevisiae* na fermentação do vinho em 3150 a.c (CAVALIERI *et al.*, 2003) sendo a principal levedura aplicada na indústria de bebidas e alimentos (BOTSTEIN e FINK, 2011). As leveduras foram selecionadas como modelo eucarioto devido ao mecanismo simples de replicação, recombinação, divisão celular e conservação do metabolismo entre leveduras e eucariotos de maior

porte (mamíferos) (BOTSTEIN e FINK, 2011). Estima-se que 31% dos genes das leveduras são homólogos aos humanos (HERSKOWITZ, 1988).

Além das aplicações em alimentos e genética, a levedura *S. cerevisiae* tem sido aplicada como ingrediente de alimentos funcionais, alimentação animal e tratamento de efluentes com elevada concentração de metais (FERREIRA *et al.*, 2010).

Saccharomyces cerevisiae apresenta tempo de duplicação próximo a 90 minutos e em meio padrão *Yeast Peptone Dextrose* atinge densidade celular máxima de 2×10^8 UFC mL⁻¹ (KOVAČEVIĆ, 2015). A multiplicação ocorre multi-lateralmente com o desenvolvimento de brotos por toda superfície. Na fase vegetativa, o broto aumenta até atingir dimensões semelhantes a célula mãe, quando ocorre o desprendimento e o mesmo processo se repete em ambas células (RATLEDGE, 1991). Em condições adversas, a levedura pode esporular gerando ascósporos, permitindo a sobrevivência durante períodos de secura e temperaturas elevadas, germinando em condições favoráveis. A formação de brotos pode ocorrer nas células mãe e filha até mesmo antes da separação celular (OCA *et al.*, 2016). A multiplicação celular ocorre em quatro fases características: lag, exponencial, estacionária e declínio. A fase lag é comumente chamada de adaptativa, pois é caracterizada pela adaptação da levedura ao meio de cultura e ocorre após a inoculação. Nesta etapa não ocorre divisão celular, apenas crescimento em tamanho, síntese de RNA, enzimas, coenzimas e atividades fisiológicas. Após adaptação, a levedura entra na fase exponencial e multiplica-se em taxa geométrica e constante, com o menor tempo de geração e dependente da disponibilidade de nutriente no meio. Na fase estacionária, a levedura tem sua taxa de multiplicação e morte próximas, não ocorrendo aumento no número de células se caracterizando pela escassez de nutrientes no meio e acúmulo de produtos tóxicos. Após consumo de todo substrato e acúmulo de produtos tóxicos, a levedura entra na fase de declínio quando a taxa de morte celular supera a de multiplicação.

2.4 Leveduras no tratamento de efluentes

O tratamento biológico de efluentes industriais utilizando leveduras surgiu como alternativa para redução do impacto ambiental, redução de custos e geração de co-produtos de ampla aplicação. O primeiro sistema de tratamento utilizando

leveduras foi implementado nos anos de 1990 pelo *Japanese Research Institute* (WANG *et al.*, 2018). Atualmente diversos trabalhos relatam o potencial aplicação de leveduras no tratamento de efluentes da indústria têxtil (ABIOYE *et al.*, 2014), farmacêutica (WANG *et al.*, 2017), alimentos (WATANABE *et al.*, 2008; KURCZ *et al.*, 2018) e aplicação da biomassa para bio-sorção de metais (NASCIMENTO *et al.*, 2016). A aplicação de leveduras no tratamento biológico de efluentes contendo altas concentrações de óleo permanece sendo o único método biológico capaz de remover em 100x a concentração deste composto em efluentes (WANG *et al.*, 2017). A obtenção de biomassa de leveduras normalmente é realizada em subprodutos da indústria de alimentos, silvicultura e agricultura (HAHN-HÄGERDAL *et al.*, 2005; Bekatorou *et al.*, 2006). Além de permitir significativas remoções nas etapas de tratamento, a utilização de leveduras e complexidade da biomassa obtida na etapa de tratamento ampliam sua utilização como fonte de lipídios (CHUNG *et al.*, 2016), glicolipídios e enzimas (YANG *et al.*, 2013), reduzindo custos com meio de cultivo e tratamento. Kurcz *et al.* (2018) demonstra a utilização de efluente do processamento de batata suplementado com glicerol para produção de biomassa de *Candida utilis* ATCC 9950 – levedura que apresenta selo GRAS (*Generally Recognized as Safe*), aprovada pela FDA (*Food and Drug Administration*) e alta concentração proteica. Em uma ampla avaliação do potencial de produção de biomassa para obtenção de co-produtos, Taccari *et al.* (2012) testaram 113 cepas de levedura em cultivos de glicerol puro - 23 cepas apresentaram específicas taxas de crescimento e produção de biomassa superiores à cultivo em glicose.

A primeira avaliação do potencial bioremediador de leveduras no tratamento do efluente da parboilização foi realizada em cultivos sob agitação constante utilizando *Candida utilis* IZ-1840, obtendo 68,9% de remoção de nitrogênio total e 54% de DQO em 24 h, além de 1,4 g L⁻¹ de biomassa como potencial fonte de proteína unicelular (RODRIGUES E KOETZ, 1996). A fim de aumentar a concentração de carbono disponível, atividade bioremediadora e produção de biomassa de *Pichia pastoris* X-33, Gil de los Santos *et al.* (2012) avaliaram a suplementação do efluente da parboilização com glicerol P.A e/ou glicerol bruto (co-produto da indústria de biodiesel de soja). As maiores remoções foram obtidas em 70h de cultivo em biorreatores com suplementação de 15 g L⁻¹ de glicerol de biodiesel, reduzindo em 55% a DQO, 45% NTK e 52% P, além de gerar 2,06 g L⁻¹ de biomassa. Gaboardi *et al.* (2018) avaliaram a atividade biorremediadora e produção de biomassa de *Saccharomyces boulardii* em

biorreatores suplementados com glicerol de biodiesel e/ou sacarose. Os resultados mais promissores foram obtidos no cultivo suplementado com 1% de sacarose, com remoções de 74% (DQO), 60% (NTK), 78% (P) e geração de 3.8 g L⁻¹ de biomassa em 48 h. O grande benefício estabelecido no processo de bioremediação do efluente de arroz parboilizado usando-se leveduras, *Pichia Pastoris* e *Saccharomyces boulardii*, está na possibilidade de obter-se biomassa com comprovada ação como prebiótico e imunomodulador tanto na criação de frangos de corte como na criação de codornas (GIL DE LOS SANTOS *et al.*, 2018; GABOARDI *et al.*, 2019).

REFERÊNCIAS

ABINANDAN, S.; BHATTACHARYA, R.; SHANTHAKUMAR, S. Efficacy of *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus abundans* for Nutrient Removal in Rice Mill Effluent (Paddy Soaked Water). **International journal of phytoremediation**, v. 17, p. 377–381, 2015.

ABIOYE, O. *et al.* Biological Treatment of Textile Effluent Using *Candida zeylanoides* and *Saccharomyces cerevisiae* Isolated from Soil. **Advances in Biology**, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2014/670394>>.

AIYER, P.V. Amylases and their applications. **Afr. J. Biotechnol.** 2005. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/AJB>

AKPAN, I.; BANKJOLE, M.O.; ADESERMOWO, A.M. Production of α -amylase by *Aspergillus niger* in a cheap solid medium using rice bran and agricultural material. **Tropical Science**, 1999.

ALBERGHINA, L.; CIRULLI, C. Proteomics and systems biology to tackle biological complexity: Yeast as a case study. **Proteomics**, v. 10, p. 4337–4341, 2010.

ARAVINDAN, R.; ANBUMATHI, P.; VIRUTHAGIRI, T. Lipase applications in food industry. **Indian Journal of Biotechnology**, 2007. Disponível em: <<http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/3016>>.

ARUNA, K.; SHAH, J.; BIRMOLE, R. Production and partial characterization of alkaline protease from *Bacillus tequilensis* strains CSGAB 0139 isolated from spoiled cottage cheese. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical** 2014. Disponível em: <www.ijabpt.com>

BAHRI, M. *et al.* Integrated oxidation process and biological treatment for highly concentrated petrochemical effluents: A review. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2018.02.002>>.

BALBINOTI, T.C.V *et al.* Modelling the hydration step of the rice (*Oryza sativa*) parboiling process. **Journal of Food Engineering**, v. 216, p. 81–89, 2018.

BEKATOROU, A *et al.* Production of Food Grade Yeasts. **Food Technology and Biotechnology**, v. 44, p. 407-415, 2006.

BOTSTEIN, D.; FINK, G. R. Yeast: an experimental organism for 21st Century biology. **Genetics**, v. 189, p. 695–704, 2011.

BOYLE, J. **Lehninger principles of biochemistry (4th ed.): Nelson, D.; and Cox, M.; Biochemistry and Molecular Biology Education**, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/bmb.2005.494033010419>>.

BUCHER, M. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. **The New phytologist**, v. 173, n. 1, p. 11–26, 2007.

BUGGENHOUT, J.; BRIJS, K.; CELUS, I.; DELCOUR, J.A. The breakage susceptibility of raw and parboiled rice: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 304–315. 2013.

CAVALIERI, D. *et al.* Evidence for *S. cerevisiae* fermentation in ancient wine. **Journal of Molecular Evolution**, v. 57, p. 226–232, 2003.

CHUNG, J. *et al.* Biodiesel production from oleaginous yeasts using livestock wastewater as nutrient source after phosphate struvite recovery. **Fuel**, v.186, p. 305-310, 2016.

Conab (2019) Levantamento de Safras. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php>>. Acesso em: 22 mar 2020.

COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. Á. Application of solid-state fermentation to food industry - A review. **Journal of Food Engineering**, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.022>>.

de Souza PM, de Oliveira Magalhães P. Application of microbial α -amylase in industry - A review. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2010. Disponível em: <10.1590/S1517-83822010000400004>.

DUTTA, H.; MAHANTA, C. L. Traditional Parboiled Rice-Based Products Revisited: Current Status and Future Research Challenges. **Rice Science**, 2014. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s1672-6308\(13\)60191-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1672-6308(13)60191-2)>.

EGLE, L.; RECHBERGER, H.; KRAMPE, J.; ZESSNER, M. Phosphorus recovery from municipal wastewater: An integrated comparative technological, environmental and economic assessment of P recovery technologies. **The Science of the Total Environment**, v. 571, p. 522–542, 2016.

FEHRENBACH, G. W. **Efluente da parboilização do arroz: Bioremediação e produção de biomassa**. 2019. 54 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

Felipi, C.C.; Zanotelli, C.T. Qualidade do efluente gerado no processo de parboilização de arroz, 2005 Disponível em:

<<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/paraguay5/IIAS08.pdf>>. Acesso em: 10 Fev. 2020.

FERREIRA, C.M.; YOKOYAMA, L. P. **Cadeia produtiva do arroz na Região Centro-Oeste**. Brasília. Embrapa Produção de Informações, ISBN 85-7437-005-3.

FERREIRA, I. M. P. L. V. O. *et al.* Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. **Trends in Food Science & Technology**, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.008>>.

GABOARDI, G. *et al.* Bioremediation and biomass production from the cultivation of probiotic *Saccharomyces boulardii* in parboiled rice effluent. **Journal of environmental management**, v. 226, p. 180–186. 2018.

GIL DE LOS SANTOS, D.; GIL TURNES, C.; ROCHEDO CONCEIÇÃO, F. Bioremediation of parboiled rice effluent supplemented with biodiesel-derived glycerol using *Pichia pastoris* X-33. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 492925, 2012.

GIL DE LOS SANTOS, D. *et al.* Probiotic effect of *Pichia pastoris* X-33 produced in parboiled rice effluent and YPD medium on broiler chickens. **Plos One**, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192904>>.

GERBER, M.D. *et al.* Toxicity evaluation of parboiled rice effluent using sperm quality of zebrafish as bioindicator, **Ecological Indicators**, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.09.016>>.

GERBER, M.D., ARSAND, D.R., LUCIA, T. *et al.* Phytotoxicity Evaluation of Wastewater from Rice Parboiling, **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00128-018-2455-9>>.

GRÉGORIO, C.; ERIC, L. Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment, **Environmental Chemistry Letters**, 2019. Disponível em: <[10.1007/s10311-018-0785-9](https://doi.org/10.1007/s10311-018-0785-9)>.

HAHN-HÄGERDAL, B. *et al.* Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use, **Microbial Cell Factories**, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1475-2859-4-31>>.

HEINEMANN, R. J. B. *et al.* Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2004.07.005>>.

HERSKOWITZ, I. Life cycle of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbiology Reviews**, 1988. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/0000-0749-53-1-185-189>>.

HITTINGER, C. T.; STEELE, J. L.; RYDER, D. S. Diverse yeasts for diverse fermented beverages and foods. **Current opinion in biotechnology**, v. 49, p. 199–206. 2018.

ILLMER, P.; BARBATO, A.; SCHINNER, F. Solubilization of hardly-soluble AlPO₄ with P-solubilizing microorganisms. **Soil biology & biochemistry**, v. 27, p. 265–270. 1995.

JOOYENDEH, H.; KAUR, A.; MINHAS, K.S. Lipases in dairy industry: A review. *Journal of Food Science Technology*, v. 46, p. 181–189. 2009.

KADLEC, R.H. Large Constructed Wetlands for Phosphorus Control: A Review. **Water**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/w8060243>>.

KIRK, P.; CANNON, P.; MINTER, D.; STALPERS, J. **Dictionary of the Fungi**. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1079/9780851998268.0000>>.

KOVACEVIC, M. Morphological and physiological characteristics of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells differing in the life span. Dissertação de Mestrado, **University of Zagreb** - Faculty of Pharmacy and Biochemistry. 2015

KUCHARCZYK, K.; TUSZYŃSKI, T. The effect of wort aeration on fermentation, maturation and volatile components of beer produced on an industrial scale. **Journal of Institutional Brewing**, 2017. Disponível em: <<http://10.1002/jib.392>>.

KUMAR, A.; PRIYADARSHINEE, R.; ROY, A.; DASGUPTA, D.; MANDAL, T. Current techniques in rice mill effluent treatment: emerging opportunities for waste reuse and waste-to-energy conversion. **Chemosphere**, 2016. Disponível em: <10.1016/j.chemosphere.2016.08.118>.

KUMAR, S. Role of enzymes in fruit juice processing and its quality enhancement. **Advances in Applied Science Research**, 2015. Disponível em: <www.pelagiaresearchlibrary.com>

KURCZ, A.; BŁAŻEJAK, S.; KOT, A.M. Application of Industrial Wastes for the Production of Microbial Single-Cell Protein by Fodder Yeast *Candida utilis*. **Waste Biomass Valor**, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12649-016-9782-z>>

MAAREL, M. J. E. C. VAN DER *et al.* Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. **Journal of Biotechnology**, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1656\(01\)00407-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1656(01)00407-2)>

MARTINI, A. Origin and domestication of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Wine Research**, 1993. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/09571269308717966>>

MIGUEL, Â.S.M. *et al.* Enzymes in bakery: Current and future trends. **Food Industry**, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.5772/53168>>.

MOHAMMED, S.A.M.; SHANSOOL, H.A. Phosphorus Removal from Water and Wastewater by Chemical Precipitation Using Alum and Calcium Chloride. **Iraqi Journal of Chemical and Petroleum Engineering**, v. 10, p. 35-42, 2009.

MUKHERJEE, C. *et al.* Parboiled rice effluent: A wastewater niche for microalgae and cyanobacteria with growth coupled to comprehensive remediation and phosphorus biofertilization. **Algal Research**, v. 19, p. 225–236, 2016.

NASCIMENTO, J. M., LEITE, S. G. F., RIZZO, A. C. L. Estudo da remoção do íon cobre por meio de biossorção usando biomassa de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*). Rio de Janeiro: CETEM/MCTIC, 2016. 48p

NANDY, S.K.; SRIVASTAVA, R.K.. A review on sustainable yeast biotechnological processes and applications. **Microbiological Research**, 2018. Disponível em: <10.1016/j.micres.2017.11.013>.

NEGRULESCU, A. *et al.* Adapting the reducing sugars method with dinitrosalicylic acid to microtiter plates and microwave heating. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s0103-50532013005000003>>.

NETO, A. A. O. A cultura do arroz. **Companhia Nacional de Abastecimento**. 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>

OCA, M.R. *et al.* Yeast: description and structure. **Yeast additive and animal production**, 2016. Disponível em: <www.researchgate.net>.

OMAR, K.A. *et al.* Evaluation of starch and sugar content of different rice samples and study of their physical properties. **Indian Journal of Natural Sciences**, 2016. Disponível em: <www.tnsroindia.org>.

OUGH, C.S. Further investigations with glucose oxidase-catalase enzyme systems for use with wine. **American Society for Enology and Viticulture**, 1975. Disponível em: <<https://www.ajevonline.org/content/26/1/30>>.

PAGE. Sistema de Parboilização por Vapor (autoclave), 2018. Disponível em: <http://www.page.ind.br/_pdf/a269a680f5a2a95ee21c865ab106a462.pdf>. Acesso em: 3 fev 2020.

PARAGINSKY, R. *et al.* Technological properties and cooking of rice grains conditioned at different temperatures before parboiling. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/bjft.2014.021>>.

QUEIROZ, M.; KOETZ, P.R. Caracterização do efluente da parboilização do arroz. **Revista Brasileira de Agrociência**, 1997. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.18539/cast.v3i3.198>>.

QUEIROZ, M.I., LOPES, E.J., ZEPKA, L.Q., BASTOS, R.G., GOLDBECK, R. The kinetics of the removal of nitrogen and organic matter from parboiled rice effluent by cyanobacteria in a stirred batch reactor. **Bioresource Technology**, 2007. Disponível em: <[doi:10.1016/j.biortech.2006.08.034](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.034)>

RATLEDGE, C. Yeast physiology? a micro-synopsis. **Bioprocess Engineering**, 1991. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/bf00369712>>.

RAVEENDRAN, S. *et al.* Applications of Microbial Enzymes in Food Industry. **Food Technology and Biotechnology**, v. 56, n. 1, p. 16–30, 2018.

REGALADO, C.; GARCÍA-ALMENDÁREZ, B. E.; DUARTE-VÁZQUEZ, M. A. Biotechnological applications of peroxidases. **Phytochemistry Reviews**, ACS Symposium Series. v. 3, n. 1-2, p. 243–256, 2004.

RIO GRANDE DO SUL, 2017 - Secretaria do Meio Ambiente- Conselho Estadual do Meio Ambiente – **Resolução CONSEMA nº 355/2017**. Dispõe sobre os critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos para as fontes geradoras que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. Publicada no Diário Oficial do Estado em 19 de julho de 2017.

RIO GRANDE DO SUL, 1998 - Secretaria do Meio Ambiente- Conselho Estadual do Meio Ambiente – **Portaria FEPAM nº 1/1998**. Fixar novas condições e exigências para o Sistema de Automonitoramento de Atividades Poluidoras – SISAUTO. Publicada no Diário Oficial do Estado em 1 de março de 1998.

ROBINSON, P. K. Enzymes: principles and biotechnological applications. **Essays in Biochemistry**, v. 59, p. 1–41, 2015.

RODRIGUES, R.; KOETZ, P.R. Remoção De Nitrogênio De Efluente Da Indústria De Arroz Parboilizado Por Incorporação Em Biomassa Celular de *Candida utilis* - IZ-1840. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 2, p. 141-146, 1996.

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, R.; RENMAN, G. Phosphorus removal from UASB reactor effluent by reactive media filtration. **Environment Technology**, v. 38, p. 2024-2031, 2017.

SANTOS, A.A., DEOTI, J.R., MULLER, G., DARIO, M.G., STAMBUK, B.U., JUNIOR, S.L.A. Dosagem de açúcares redutores com o reativo DNS em microplaca. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1981-6723.1131>>.

Statista. [online]. Disponível em: <<https://www.statista.com>>. Acesso em: 2 abril 2020.

SRIDHAR, B. S.; MANOHAR, B. Hydration Kinetics and Energy Analysis of parboiling Indica Paddy. **Biosystems Engineering**, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s1537-5110\(03\)00039-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1537-5110(03)00039-4)>

STORCK, C.R. Variação na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos. 2004. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.

Sobiologia. [online]. Enzimas. <https://www.sobiologia.com.br/conteudos/quimica_vida/quimica11.php>. Acesso em: 23 fev de 2020.

SUAREZ, C.; GUEVARA, C.A. Probiotic use of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in animal feed. **Research Journal of Zoology**, 2018. Disponível em: <https://www.scitechnol.com/peer-review/probiotic-use-of-yeast-saccharomyces-cerevisiae-in-animal-feed-BbCv.php?article_id=7094>.

TACCARI, M., CANONICO, L., COMITINI, F., MANNAZZU, I., & CIANI, M. Screening of yeasts for growth on crude glycerol and optimization of biomass production. **Bioresource Technology**, 2012. Disponível em: <<http://10.1016/j.biortech.2012.01.109>>

TAKATA, H., KURIKI, T., OKADA, S., TAKESADA, Y., IIZUKA, M., MINAMIURA, N., IMANAKA, T. Action of neopullulanase. Neopullulanase catalyzes both hydrolysis and transglycosylation at alpha (1-4) and alpha (1-6) glucosidic linkages. **The Journal of biological chemistry**, v. 267, n. 26, p. 18447–18452,1992.

VISAKH, P. M. *et al.* Starch-Based Bionanocomposites: Processing and Properties Polysaccharide. **Building Blocks**, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/9781118229484.ch11>>.

WANG, C. *et al.* Performance and Yeast Tracking in A Full-Scale Oil-Containing Paromomycin Production Wastewater Treatment System Using Yeast. **Water**, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/w9040295>>.

WANG, Y. *et al.* Application of yeast in the wastewater treatment. **E3S Web of Conferences**, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/e3sconf/20185304025>>.

WATANABE, T. *et al.* Treatment and phosphorus removal from high-concentration organic wastewater by the yeast *Hansenula anomala* J224 PAWA. **Bioresource Technology**, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.006>>.

YANG, Q.X *et al.* Extracellular enzyme production and phylogenetic distribution of yeasts in wastewater treatment systems. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 264-273, 2013.

ZHUANG, X. *et al.* Cereal Grain Fractions as Potential Sources of Prebiotics Food and Feed Safety. **Systems and Analysis**, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-811835-1.00010-5>>.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental é o esboço geral dos princípios metodológicos e experimentais realizados a fim de responder uma hipótese/objetivo. Esta ferramenta facilita a visualização do projeto e identificação das variáveis, métodos, amostragem, análise e interpretação de resultados. Além de considerar as variáveis de processo, a avaliação econômica é essencial para verificação da aplicabilidade e potencial de *upscaling*. Na Figura 3 são apresentados os experimentos realizados, condições e variáveis analisadas durante o tratamento enzimático e cultivo.

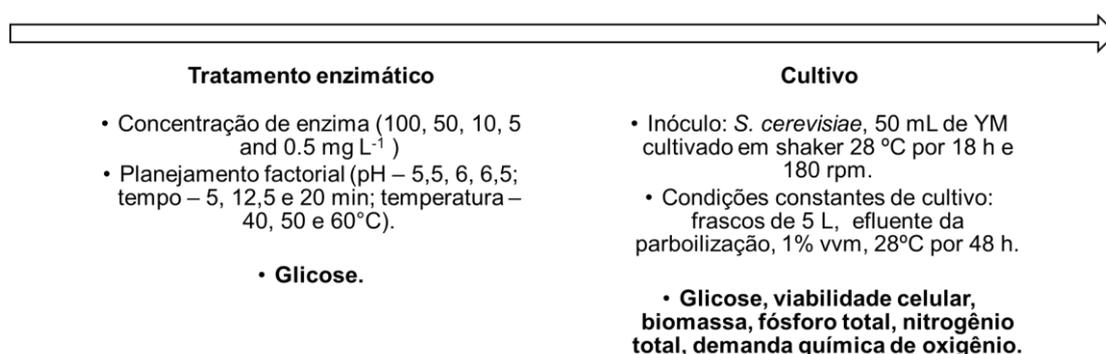


Figura 3: Delineamento experimental.

Tratamento enzimático

A concentração de trabalho utilizada no tratamento enzimático foi avaliada em 5 níveis (100, 50, 10, 5 e 0,5 mg L⁻¹), verificando-se a resposta em glicose (g L⁻¹) através do método DNS e curva padrão de glicose. A escolha da concentração considerou os resultados de glicose e custos relacionados a utilização em escala industrial. A enzima utilizada é amplamente empregada pela indústria de alimentos e bebidas em processos de panificação e fermentativos, sendo considerada de baixo nível de purificação e conseqüentemente custo. O planejamento fatorial *central composite design* 2³, com pontos axiais para ortogonalidade e 3 pontos centrais foi elaborado no *software Statistica* versão 10, avaliando os efeitos dos parâmetros pH (5,5, 6, 6,5), tempo (5, 12,5 e 20 min) e temperatura (40, 50 e 60°C), a fim de identificar as melhores condições de reação para máxima atividade enzimática, multiplicação celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e condições próximas as do efluente na indústria. Dessa forma os custos com adequação do efluente às condições do tratamento enzimático e posterior cultivo com *S. cerevisiae* foram reduzidos. A

normalidade dos resultados do planejamento factorial foi verificada utilizando *Shapiro-Wilk*.

Na etapa de cultivo, as respostas de glicose, viabilidade celular, biomassa, fósforo total, nitrogênio total e demanda química de oxigênio em EPA foram comparados com o controle em efluente da parboilização (EP). Ambos cultivos foram expostos as mesmas condições. A análise estatística foi realizada comparando-se as médias dos parâmetros em EPA e EP utilizando o teste '*t-Student*' e 5% de significância.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Essa dissertação de mestrado foi desenvolvida com o objetivo de avaliar o potencial do pré-tratamento enzimático no efluente da parboilização do arroz e no cultivo da levedura *Saccharomyces cerevisiae* avaliando seu potencial bioremediador. A avaliação do efeito do pré-tratamento enzimático se apresentou interessante devido a presença de amido no efluente da parboilização, alta viabilidade e remoção com a cepa utilizada, registrada em dissertação já defendida em outro programa de pós graduação. O pré-tratamento do efluente com hidrólise enzimática disponibilizou maiores concentrações de carbono metabolizável para a levedura aumentando a viabilidade celular e biomassa da *S. cerevisiae* cultivada no efluente tratado quando comparado aos cultivos no efluente bruto. Consideramos que os objetivos estabelecidos para este projeto e pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais - IFSUL foram alcançados, fornecendo a sociedade/indústria um método biológico, não oneroso, inédito em registrar a presença de amido no EP e aplicável sem adição de fonte extra de carbono ou condições complexas de cultivo.

Para trabalhos futuros, identificamos a oportunidade de aprimorar a remoção de DQO, avaliar a aplicação de outros micro-organismos, rotas induzidas pelo tratamento enzimático, imobilização enzimática, adequação da biomassa gerada para comercialização, combinação com outras enzimas e/ou leveduras.