



DEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA PRESENTE NA ÁGUA RESIDUÁRIA DO CAFÉ UTILIZANDO MICRORGANISMOS

Degradation of organic matter in coffee waste water using microorganisms

Maysa Costa ALVES¹, Giovanni Aleixo BATISTA², Sara Maria Chalfoun de SOUZA³, Luís Roberto BATISTA⁴, Carlos José PIMENTA⁵

RESUMO: O café representa um setor economicamente importante sendo uma das principais commodities nacionais, uma vez que o Brasil é mundialmente, o maior produtor e exportador de café. Durante o processamento via úmida se utiliza água com a finalidade de facilitar o processamento e retirar a mucilagem para evitar a fermentação dos grãos gerando uma água residuária com alta teor de matérias orgânicas. Assim, o tratamento adequado da água residuária do café torna-se necessário, uma vez que se lançada ao meio ambiente sem tratamento pode causar sérios impactos. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de fungos filamentosos na degradação da matéria orgânica presente na água residuária do processamento úmido do café. A água residuária do processamento úmido do café (*Coffea arábica L.*) utilizada no experimento foi obtida em uma propriedade rural localizada no município Campestre, Minas Gerais e os isolados utilizados foram CCDCA 10495 (*Aspergillus foetidus*); A.niger 00194 (*Aspergillus niger*); CCDCA 10232 (*Aspergillus niger*) e CCDCA 11402 (*Penicillium biliae*). Os isolados A. niger 00194 (*Aspergillus niger*) e CCDCA 10495 (*Aspergillus foetidus*) foram os que microrganismos que degradaram, com mais eficiência, a matéria orgânica presente na água residuária do café após 196 horas de fermentação.

Palavras-chave: *Coffea arábica L.*; Pós-colheita; Commodity; Biotecnologia

ABSTRACT: Coffee represents an economically important sector and is one of the main national commodities, since Brazil is the largest producer and exporter of coffee worldwide. During wet processing, water is used with a conditioner to facilitate processing and remove mucilage to prevent grain fermentation, generating waste water with a high content of organic materials. Thus, the proper treatment of coffee wastewater becomes necessary, since if released into the environment without treatment it can cause serious impacts. Thus, the objective of this study was to evaluate the use of filamentous fungi in the degradation of organic matter present in wastewater from wet coffee processing. Waste water from wet coffee processing (*Coffea arábica L.*) use no experiments was obtained on a rural property located in the municipality of Campestre, Minas Gerais and the grants were used CCDCA 10495 (*Aspergillus foetidus*); A.niger 00194 (*Aspergillus niger*); CCDCA 10232 (*Aspergillus niger*) e CCDCA 11402 (*Penicillium biliae*). Os isolados A. niger 00194 (*Aspergillus niger*) e CCDCA 10495 (*Aspergillus foetidus*) were the microorganisms that more efficiently degraded the organic matter present in the coffee wastewater after 196 hours of fermentation.

Key words: *Coffea arábica L.*; Post-harvest; Commodity; Biotechnology

*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 20/04/2021; aprovado em 05/06/2021

¹Doutora em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG; (35) 9 9950-2140, maysa-alves@hotmail.com.

²Graduando em Engenharia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, giovannialeixob@gmail.com

³Pesquisadora, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, chalfoun@epamig.ufla.br

⁴Pós-doutor pelo RIKILT (Institute of Food Safety - Wageningen University/Holanda), Universidade Federal de Lavras, luisrb@ufla.br

⁵Doutorado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, carlospimenta@ufla.br

INTRODUÇÃO

O café representa um setor economicamente importante sendo uma das principais commodities nacionais, uma vez que o Brasil é mundialmente, o maior produtor e exportador de café, sendo que em 2019 representou 36,6% da produção mundial. O valor estipulado para esta commodity está relacionado com a qualidade dos grãos, sendo que a forma de processamento pode influenciar diretamente na característica e qualidade dos mesmos (CAMPOS et al., 2014; BRANDÃO et al., 2016; CONAB, 2019).

Existem duas formas para o processamento pós-colheita, sendo o processamento por via seca, onde os grãos são mantidos intactos com casca e secos ao natural (terreiros) ou secadores mecânicos e processamento por via úmida, onde se utiliza água para facilitar o processo (CAMPOS et al., 2010; REINATO et al., 2012).

Durante o processamento via úmida se utiliza água com a finalidade de facilitar o processamento e retirar a mucilagem para evitar a fermentação dos grãos, sendo assim, é gerado um grande volume de água residuária (CAMPOS et al., 2010; SILVA et al., 2014).

A água residuária oriunda do processo de descascamento dos grãos de café é rica em sólidos suspensos totais e dissolvidos contendo uma grande variedade de compostos orgânicos, tais como açúcares, pectinas, compostos fenólicos, além de apresentarem teores de potássio, nitrogênio total, fósforo total, material inorgânico e compostos tóxicos. Assim, o tratamento adequado da água residuária do café torna-se necessário, uma vez que se lançada ao meio ambiente sem tratamento pode causar sérios impactos. (KULANDAIVELU, BHAT, 2012; OLIVEIRA e BRUNO, 2013, TORRES et al. 2017; IBARRA-TAQUEZ et al., 2017).

Existem diferentes processos para solucionar este problema ambiental, sendo que o processo biológico que utilizam microrganismos como fungos, se destaca por ser um processo econômico e eco-friendly, uma vez que elimina substâncias orgânicas biodegradáveis. No processo (SHOW, LEE, 2016; FERRER et al., 2018).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de fungos filamentosos na degradação da matéria orgânica presente na água residuária do processamento úmido do café.

MATERIAL E MÉTODOS

A água residuária do processamento úmido do café (*Coffea arabica* L.) utilizada no experimento foi obtida em uma propriedade rural localizada no município Campestre, Minas Gerais. A matéria-prima foi coletada durante o processo de desmucilagem dos grãos de café, armazenada em garrafas PET previamente higienizadas e secas. Após a coleta, o material foi congelado e transportado dentro de bolsas térmicas ao Laboratório de Análises Avançadas do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Minas Gerais e armazenado em freezer até o momento das análises.

Foram utilizados 4 isolados (CCDCA 10495 - *Aspergillus foetidus*; A.niger 00194 - *Aspergillus niger*; CCDCA 10232 - *Aspergillus niger*; CCDCA 11402 - *Penicillium biliae*) obtidos da Coleção de Cultura do Laboratório de Micologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos - UFLA e da Micoteca da EPAMIG-UFLA uma vez que foram os que mais degradaram pectina em meio Mac. Ilvaine. Os isolados em estudo não foram produtores de micotoxinas.

Primeiramente, os isolados foram ativados em meio de cultura MA: Malte Ágar (Ágar: 15 g, Malte: 20 g, Água Destilada: 1 L). Após a preparação e esterilização em autoclave, o meio foi repassado para placas de Petri (20 mL) estéreis que após secagem, foram inoculadas utilizando um palito estéril com o qual foi coletado alguns esporos e colocados em três pontos da placa. Por fim, as placas contendo os esporos dos isolados foram encubadas em B.O.D. à 25 °C durante 7 dias. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

O meio utilizado no experimento para a fermentação submersa foi constituído de: (KH₂PO₄: 2g; K₂HPO₄: 7g; (NH₄)₂SO₄: 1g; MgSO₄.7H₂O: 1g; Extrato de levedura: 0,6g e pH = 7,2) (PEREIRA, 2009). O meio foi distribuído em erlenmeyers de 250 mL na proporção de 100 mL por frasco.

Utilizou-se um meio controle com os mesmos nutrientes do meio anterior (KH₂PO₄: 2g; K₂HPO₄: 7g; (NH₄)₂SO₄: 1g; MgSO₄.7H₂O: 1g; Extrato de levedura: 0,6g e pH = 7,2) (PEREIRA, 2009). O meio foi distribuído em erlenmeyers de 250 mL na proporção de 100 mL por frasco.

Após a esterilização dos dois meios em autoclave a 121 °C durante 15 minutos, o meio com água residuária do café foi inoculado com 1,0 mL da suspensão com 106 esporos/mL e ao meio controle, adicionou-se a enzima pectinase (Pectinase de *Aspergillus niger*, marca Sigma) na proporção de 1%. Ambos os meios foram incubados durante 196 horas a 30 °C e 100 rpm em “shaker”. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Após o período de 196 horas, os fermentados de cada erlenmeyer foram filtrados em organza e os líquidos resultantes foram analisados quanto aos teores de pectina total, DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e DQO (Demanda Química de Oxigênio) nos Laboratórios de Bioquímica e Análise de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos e de Qualidade de Água do Departamento de Engenharia da UFLA a fim de averiguar a capacidade de degradação da matéria orgânica e da pectina presentes na água residuária do café.

A Demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅^{20 °C}) foi obtida pela determinação do oxigênio dissolvido pelo método iodométrico (Processo Winkler) e a Demanda química de oxigênio (DQO) foi determinada pelo método de oxidação química em refluxo aberto.

O doseamento de pectina total foi realizado pelo método colorimétrico, por meio da condensação colorida por reação da pectina hidrolisada (ácido galacturônico) com o carbazol (BITTER, MUIR; 1962).

Os resultados da fermentação para meio com água residuária do café e para o meio controle foram submetidos ao teste de média Scott Knott com 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 196 horas de fermentação, foram determinados os valores de pectina total e de DBO e DQO como mostrados na Figura 1.

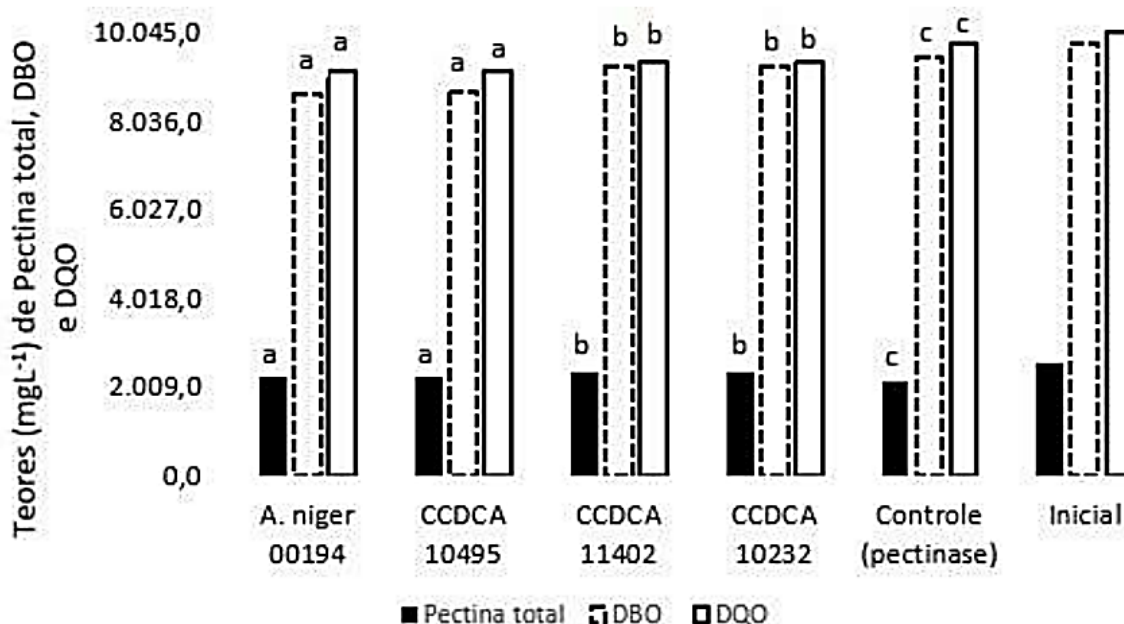
Através dos valores encontrados foi possível observar que houve redução dos teores de pectinase total, DBO e DQO para todos os isolados.

Segundo Oliveira (2005), fungos filamentosos são citados como agentes transformadores eficazes, face à habilidade em degradar uma ampla diversidade de

substâncias orgânicas, comumente encontradas nos efluentes gerados pelas refinarias e indústrias.

O isolado *A. niger* 00194 (*Aspergillus niger*), obteve a maior redução dos níveis de DBO (8655,00 mgL⁻¹) e DQO (9156,30 mgL⁻¹) presentes na água residuária do café, representando um potencial de degradação de 11,68% (DBO) e 8,80% (DQO), indicando que houve diminuição da quantidade de oxigênio consumido na degradação da matéria orgânica por processos biológicos e também da quantidade de oxigênio necessária para oxidar a matéria orgânica biodegradável.

Figura 1. Teores de pectina total, DBO e DQO (mgL⁻¹) após 196 horas de fermentação.



*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, de acordo com o teste Scott-Knott ($p > 0,05$).

Os teores de DBO e DQO determinados para o isolado CCDCA 10495, *Aspergillus foetidus*, foram próximos aos encontrados pelo fungo *Aspergillus niger* que foram de 8682,20 mgL⁻¹ e 9170,10 mgL⁻¹, respectivamente. O potencial de degradação foi de 11,41% (DBO) e 8,66% (DQO). Os valores encontrados para essas espécies não diferiram estatisticamente a 5% de significância.

Os isolados CCDCA 11402 (*Penicillium biliae*) e CCDCA 10232 (*Penicillium citrinum*) apresentaram valores de DBO e DQO de (9280,1 mgL⁻¹; 9368,1 mgL⁻¹) e (9277,30 mgL⁻¹; 9342,2 mgL⁻¹), respectivamente. As duas espécies apresentaram valores aproximados de redução da matéria orgânica presente e não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade. As porcentagens de degradação da DBO e DQO utilizando *Penicillium biliae* (CCDCA 11402) foram de 5,31% e 6,69%, respectivamente.

Para a espécie *Penicillium citrinum* (CCDCA 10232), os índices de redução da DBO e DQO foram de 5,33% e 6,95%, respectivamente. A água residuária do café pode apresentar também teores de lignina, celulose

e hemicelulose na sua composição. A utilização do fungo *Aspergillus niger* na degradação dessas substâncias pode ocorrer devido a uma ampla faixa de enzimas lignocelulolíticas, como por exemplo a celulase e a xilanase (SLIVINSKI, 2007).

A redução da matéria orgânica e da pectina total observada para os isolados dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* também está associada à ação de enzimas pectinolíticas que são secretadas por fungos filamentosos desses gêneros (KASHYAP ET AL., 2001, JAYANI ET AL., 2005).

Entre as enzimas pectinolíticas, a espécie *Aspergillus niger* é produtora das enzimas: poligalacturonase, endo-poligalacturonase, exo-poligalacturonase, pectina liases e pectinesterases. As pectinases produzidas por *Aspergillus niger* são de grande importância, pois são classificadas como GRAS (Generally Recognized as Safe), permitindo assim sua aceitabilidade na indústria de processamento de alimentos.

Além disso, a pectina liase produzida por *Aspergillus niger* é a única enzima capaz de hidrolisar,

sem ação prévia de outras enzimas, pectinas altamente esterificadas, como a pectina de frutas (MOYO et al., 2003).

O gênero *Penicillium* tem a capacidade de secretar as enzimas: pectina liases e pectinesterases. A pectina comercial utilizada como controle no presente trabalho a fim de comparação é de origem fúngica (*Aspergillus*) que exhibe características de alta atividade de endopoligalacturonase e de pectina liase. Sendo assim, a maior degradação de pectina total foi verificada com o uso da enzima comercial.

Os teores encontrados para pectina total (2100,10 mgL⁻¹), DBO (9465,30 mgL⁻¹) e DQO (9792,00 mgL⁻¹) com o uso da enzima comercial diferiram estatisticamente dos demais a 5 % de significância. A porcentagem de degradação da pectina total para a enzima foi de 16, 67%.

Os teores de pectina total determinados pelas espécies *Aspergillus niger* e *Aspergillus foetidus* foram de 2303,17 mgL⁻¹ e 2318,25 mgL⁻¹, respectivamente e não diferiram significativamente entre si. A porcentagem de degradação da pectina total para as espécies *Aspergillus niger* e *Aspergillus foetidus* foram de 8,60% e 8,02%, respectivamente.

Para as espécies estudadas *Penicillium citrinum* e *Penicillium biliae*, os valores de pectina total foram de 2397,54 mgL⁻¹ e 2402,02 mgL⁻¹, respectivamente e não diferiram significativamente entre si. A porcentagem de degradação da pectina total para as espécies *Penicillium citrinum* e *Penicillium biliae* foram de 4,90% e 4,68%, respectivamente.

Apesar de existirem vários fungos produtores de pectinases, Jia et al. (2000), afirmam que as enzimas pectinolíticas usadas na indústria de alimentos são comercialmente produzidas em sua maioria por *Aspergillus niger*. A ação da enzima protease presente em *Aspergillus niger* (LI et al., 2008) na degradação de proteínas presentes na água residuária do café também pode ter influência positiva nas quedas dos níveis de DBO e DQO.

De acordo com Griffin (1994), os fungos são importantes, também, como primeiro agente de decaimento nos ciclos do carbono e de alguns nutrientes como fósforo e nitrogênio.

Contudo, Rodrigues (2006) afirma que pouco ainda se sabe a respeito das atividades metabólicas desses microrganismos quando empregados em processos de tratamento biológico de águas residuárias, o que torna necessário o aprofundamento do estudo dessa nova tecnologia.

A aplicação de enzimas para remover contaminantes ambientais e industriais tem sido estudada nos últimos 20 anos. As reações realizadas utilizando técnicas baseadas em enzimas são caracterizadas por uma alta eficiência e seletividade e são significativamente mais benignas para o meio ambiente quando comparadas com os métodos puramente químicos de remediação ambiental (SZATKOWSKI et al., 2011).

Sendo assim, uma etapa preliminar no tratamento do efluente seria a adição do líquido resultante da fermentação que contém as enzimas (extrato enzimático) à um volume maior de água residuária a fim

de degradar substâncias pectínicas e matérias orgânicas presentes.

CONCLUSÕES

Os isolados *A. niger* 00194 (*Aspergillus niger*) e CCDCA 10495 (*Aspergillus foetidus*) foram os que microrganismos que degradaram, com mais eficiência, a matéria orgânica presente na água residuária do café após 196 horas de fermentação.

REFERÊNCIAS

BITTER, T.; MUIR, H.M.A. modified uronic acid carbazole reaction. *Analytical Biochemistry*, New York, v.34, n.4, p.330-334, 1962.

BRANDÃO, F. J. B.; BIAGGIONI, M. A. M.; SPEROTTO, F. C. S.; FUJITA, E.; SANTOS, P. L.; SILVA, M. A. P. Ozonated water in the post-harvest treatment of coffee fruits. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, n. 9, p. 862-866, 2016.

CAMPOS, C. M. M.; PRADO, M. A. C.; PEREIRA, E. L. Caracterização físicoquímica, bioquímica e energética da água residuária do café processado por via úmida. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 4, p. 514-524, jul-ago, 2010.

CAMPOS, C. M. M.; PRADO, M. A. C.; PEREIRA, E. L. Kinetic parameters of biomass growth in a UASB reactor treating wastewater from coffee wet processing (WCWP). **Revista Ambiente & Água**, v. 9, n. 4, p. 577-592, Taubaté, out-dez, 2014.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Boletim da Safra de Grãos. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 10 de janeiro de 2020.

FERRER, J.; SECO, A.; ROBLES, A. Tratamientos biológicos de águas residuales. *Universitat Poliècnica de València*, 2018.

GRIFFIN, D.H. *Fungal physiology*. 2. ed. **New York: Wiley-Liss**, 1994.

IBARRA-TAQUEZ, H. N.; GILPAVAS, E.; BLATCHLEY, E. R.; GÓMEZ-GARCÍA, M. Á.; DOBROSZ-GÓMEZ, I. Integrated electrocoagulation-electrooxidation process for the treatment of soluble coffee effluent: Optimization of COD degradation and operation time analysis. **Journal of Environmental Management**, v. 200, n.15, p. 530-538, 2017.

JAYANI, R.S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2931-2944, 2005.

KASHYAP, D.R. et al. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 215-227, 2001.

- KULANDAIVELU, V.; BHAT, R. Changes in the physico-chemical and biological quality attributes of soil following amendment with untreated coffee processing wastewater. **European Journal of Soil Biology**, 50, 39-43, 2012.
- LI, Q.; HARVEY, L. M.; McNEIL, B. The effects of bioprocess parameters on extracellular proteases in a recombinant *Aspergillus niger* B1-D. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 78, n. 2, p. 333-341, 2008.
- MOYO, S.; GASHE, B. A.; COLLISON, E. K.; MPUCHANE, S. Optimising growth conditions for the pectinolytic activity of *Kluyveromyces wickerhamii* by using response surface methodology. **International Journal of Food Microbiology**, v 85, n. 1/2, p. 87-100, 2003.
- OLIVEIRA, R. A.; BRUNO, N. M. N. Start-up of horizontal anaerobic reactors with sludge blanket and fixed bed for wastewater treatment from coffee processing by wet method. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 353-366, 2013.
- OLIVEIRA, S.D. e LEMOS, J.L.S. (2005) Biodegradação de petróleo de solo areno-argiloso por fungo filamentosos. In: XIII Jornada de Iniciação Científica, Centro de Tecnologia Mineral – CETEM/MCT.
- PEREIRA, W. V. Caracterização e identificação molecular de espécies de *Colletotrichum* associados à antracnose da goiaba no Estado de São Paulo. 2009. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba. 2009.
- REINATO, C. H. R. et al. Qualidade do café secado em terreiros com diferentes pavimentações e espessuras de camadas. **Coffee Science**, Lavras, v. 7, n. 3, p. 223-237, 2012.
- RODRIGUES, C. Desenvolvimento de bioprocesso para produção de ácido cítrico por fermentação no estado sólido utilizando polpa cítrica. 93 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2006.
- SHOW, K. Y.; LEE, D. J. Anaerobic Treatment Versus Aerobic Treatment. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Biological Treatment of Industrial Effluents. **Elsevier B.V**, 2016.
- SILVA, J. S.; DONZELES, S. M. L.; SOARES, S. F.; MORELI, A. P.; VITOR, D. G. Lavadores e Sistema de Reuso da Água no Preparo do Café. Brasília, DF: Embrapa Café, 2014. 12 p. (Embrapa Café. Circular técnica, 4).
- SLIVINSKI, C.T. Produção, purificação parcial e caracterização bioquímica de glucoamilase de *Aspergillus niger* obtida por fermentação em estado sólido. 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2007.
- SZATKOWSKI, L. et al. Oxidative dechlorination of halogenated phenols catalyzed by two distinct enzymes: horseradish peroxidase and dehaloperoxidase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 505, n. 1, p. 22-32, jan. 2011.
- TORRES, J., BATISTA, P., SILVA, M., Dos Santos, C., & Duarte, A., Enzymatic oxidation of phenolic compounds in coffee processing wastewater., **Water Science and Technology**, Vol. 1, nº. 73, 2016, pp. 39-50.