



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS- UFAL**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA - CTEC**  
**PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM**  
**ENGENHARIA QUÍMICA**



**JOSIMAYRA ALMEIDA MEDEIROS**

**BIORREMEDIAÇÃO DO SORO DO LEITE UTILIZANDO CONSÓRCIO**  
**MICROALGA-FUNGO**

**MACEIÓ**

**2022**

JOSIMAYRA ALMEIDA MEDEIROS

**BIORREMEDIAÇÃO DO SORO DO LEITE UTILIZANDO CONSÓRCIO  
MICROALGA-FUNGO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva

MACEIÓ

2022

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

M488b Medeiros, Josimayra Almeida.  
Biorremediação do soro do leite utilizando consórcio microalga-fungo  
/ Josimayra Almeida Medeiros. – 2022.  
86 f. : il. color.

Orientador: Carlos Eduardo de Farias Silva.  
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia  
Química) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia.  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 72-84.  
Apêndice: f. 85-86.

1. Soro do leite. 2. Biorremediação. 3. Fungos filamentosos. 4.  
Microalgas. I. Título.

CDU: 66.0: 579.266

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço aos seres de luz do universo que a todo momento me concederam fé, força e coragem me possibilitando, assim, alcançar mais essa conquista.

Aos meu pais, Josivete e Marcos, toda a minha gratidão. Vocês são minha fonte diária de expiração, força e meu real exemplo de vida. Em cada página escrita aqui ou em cada ação positiva minha tem um pouquinho de vocês. Obrigada por sempre acreditarem que eu conseguiria, por estarem sempre ao meu lado e por cada acalento, mesmo que enviado a distância. É tudo por vocês, sempre. Agradeço, também, a minha irmã Myrlla por toda confiança e carinho.

A minha irmã de vida, Dayane Albuquerque, minha gratidão. Nesses últimos anos você foi meu ponto de apoio e aconselhamento. Obrigada por ter se feito tão presente, acolhido minhas inseguranças e vibrado com as minhas conquistas. Agradeço, também, a minha amiga Raíza que mesmo distante sempre me trouxe palavras de conforto e carinho.

Aos meus amigos do colégio, Brenda, Luana, Lysanne, Dayane e Bartolomeu, meu imenso agradecimento. Ter vocês em minha vida são a prova que eu nunca estarei só.

As minhas companheiras de laboratório e amigas, Micaela, Francine e Gaby, meu agradecimento por todos os dias compartilhados e em meio a eles, tantas risadas, conversas e aprendizados. Obrigada por deixarem a rotina do laboratório mais leve e por compartilharem a vida comigo.

A Margarete, toda a minha gratidão por ter me apresentado o mundo da pesquisa e por todos os conhecimentos comigo partilhados.

Ao meu orientador Carlos Eduardo, meu agradecimento por todos os ensinamentos compartilhados e por me auxiliar nesse e em outros projetos.

Por fim, agradeço a mim que mesmo em meio a tantas crises de ansiedade e inseguranças nunca pensei em desistir dos meus objetivos e me dediquei com todas as minhas forças para alcançar cada um deles.

Estou entre aqueles que  
pensam que a ciência  
tem uma grande beleza.

Marie Curie

## RESUMO

A indústria de laticínios é um dos principais segmentos do setor alimentício em razão do seu crescimento expressivo e contínuo. Entretanto, o seu processo produtivo gera um subproduto conhecido como soro do leite que possui um alto potencial poluidor e por isso seu descarte é considerado um grande problema para esse setor. Associado a isso, os tratamentos físico-químicos comumente aplicados para esse tipo de efluente são altamente dispendiosos o que torna a sua utilização inviável, em especial para pequenas e médias indústrias. A biorremediação vem como uma possibilidade para superar esse obstáculo e promover, de forma eficiente e com um menor custo associado, a remoção total ou parcial dos poluentes encontrados no soro do leite. Nesse sentido, esse trabalho tem por intuito avaliar a utilização de fungos filamentosos (*Penicillium oxalicum* e *Cunninghamella echinulata*) e microalga (*Tetrademus sp.*) no tratamento desse efluente, bem como comprovar as vantagens da utilização do consórcio microalga-fungo. Para isso, o processo de remediação foi estudado utilizando 4 concentrações do soro do leite (0,5, 1, 2 e 4%) e 3 sistemas de inóculo (fungo, microalga, e o consórcio) sob condições de agitação e iluminação constantes. O soro do leite foi caracterizado inicialmente com altos teores de demanda química de oxigênio (DQO) ( $52.886 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ ), nitrogênio total (NT) ( $1.563 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) e fosfato total (FT) ( $663,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Os resultados obtidos na etapa 1 apontaram uma superioridade do consórcio em relação aos sistemas com as espécies separadas (monossistemas), principalmente quando o efluente foi usado em uma maior concentração. Com a comprovação da hipótese inicial, foi realizado o tratamento do soro do leite utilizando reator coluna de bolhas e o consórcio formado pela microalga e o fungo *Cunninghamella echinulata*, o qual mostrou maior eficiência, e para esse sistema foram avaliadas duas intensidades luminosas ( $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  e  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), além de comparar o potencial de remediação desses microrganismos em relação aos contaminantes naturais desse meio (microrganismos endógenos) (controle). Ambos os sistemas que utilizaram o consórcio apresentaram valores residuais menores para os poluentes avaliados do que o controle. Entretanto a intensidade luminosa de  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  se destacou permitindo que o tratamento promovido pela simbiose atingisse percentuais de remoção de 91,3% para DQO, 90,46% para FT e 77% para NT. Desta maneira, o consórcio microalga-fungo se apresenta como potencial alternativa para promover a remediação do soro do leite e ainda, elevar a produção de biomassa.

**Palavras-chave:** Remediação, consórcio, fungo, microalga, soro do leite.

## ABSTRACT

The dairy industry is one of the main segments of the food sector due to its expressive and continuous growth. However, its production process generates a by-product known as whey that has a high polluting potential, and therefore its disposal is considered a huge problem for it. As regards, the physicochemical treatments commonly applied to this type of effluent are highly expensive, which makes their use unfeasible, especially for small and medium-sized industries. Bioremediation comes as a possibility to overcome this obstacle and to promote efficiently and with a lower associated cost the total or partial removal of pollutants found in whey. In this sense, this work aims to evaluate the use of fine fungi (*Penicillium oxalicum* Currie and *Cunninghamella echinulata*) and microalgae (*Tetradesmus* sp.) in the treatment of this whey effluent as well as to prove the advantages of using the fungi-microalgae consortium. Therefore, the remediation process was studied using 4 concentrations of whey (0.5%, 1%, 2%, and 4%) and 3 inoculum systems (fungus, microalgae, and the consortium) under constant agitation and lighting conditions. Whey was initially characterized by high levels of chemical demand for oxygen (52.886 mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>), total nitrogen (1.563 mg.L<sup>-1</sup>), and total phosphorus (663.5 mg. L<sup>-1</sup> in terms of phosphate). The results obtained in step 1 showed a superiority of the consortium in relation to systems with separate species (monosystems), especially when the effluent was used in a higher concentration. With the confirmation of the initial hypothesis, the whey treatment was carried out using a bubble column reactor and the consortium formed by the microalgae and the fungus *Cunninghamella echinulata*, which showed greater efficiency, and for this system two light intensities were evaluated (100 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> and 50 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>), in addition to comparing the remediation potential of these microorganisms in relation to the natural contaminants of this medium (endogenous microorganisms) (control). Both systems that used the consortium showed lower residual values for the evaluated pollutants than the control. However, the light intensity of 100 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> stood out, allowing the treatment promoted by symbiosis to reach removal percentages of 91.3% for COD, 90.46% for FT and 77% for NT. As a result, the microalgae-fungus consortium presents itself as a potential alternative to promote the remediation of whey and also increase the production of biomass.

**Keywords:** Remediation, consortium, fungus, microalgae, whey.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Parâmetros comumente encontrados em águas residuais da indústria de laticínios.
- Figura 2** – Mecanismo de biofloculação entre os fungos e as microalgas.
- Figura 3** – Mecanismo de remediação através do consórcio microalga-fungo.
- Figura 4** – Fluxograma de processo das etapas realizadas para o desenvolvimento da pesquisa.
- Figura 5** – Imagem de microscópio óptico da microalga *Scenedemus sp.* LCE-01 com aumento de 1000x e dos esporos do fungo filamentoso *Penicillium oxalicum* com um aumento de 40x.
- Figura 6** – Meios de manutenção para a microalga (A) e o fungo filamentoso (B).
- Figura 7** – Sistema de tratamento conforme a primeira configuração.
- Figura 8** – Sistema de tratamento conforme a terceira configuração.
- Figura 9** – Biopellets (A) formados durante o tratamento do soro do leite e sua visão microscópica ampliada 40x (B).
- Figura 10** – Curvão padrão de DQO.
- Figura 11** – Curvão padrão de fosfato total.
- Figura 12** – Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) e o consórcio entre eles na remoção de DQO presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).
- Figura 13** – Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) e o consórcio entre eles na remoção de NT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).
- Figura 14** – Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) e o consórcio entre eles na remoção de FT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).
- Figura 15** – Biomassa gerada pelos sistemas microalga, fungo e o consórcio entre eles nas diferentes concentrações do soro do leite.
- Figura 16** – Comportamento do pH do meio na remediação utilizando a microalga, o fungo e o consórcio entre eles.
- Figura 17** – Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) na remoção de DQO presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).
- Figura 18** – Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) na remoção de FT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



**Figura 19** – Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) na remoção de NT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).

**Figura 20** – Biomassa produzida pelo fungo *Penicillium oxalicum* (A) e *Cunninghamella echinulata* (B) na remediação do efluente com 4% do soro do leite em um período de retenção hidráulica de 11 dias (264h).

**Figura 21** – Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga- fungo e pelos contaminantes naturais (CNT) na remoção de DQO presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).

**Figura 22** – Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga- fungo e pelos contaminantes naturais (CNT) na remoção de NT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).

**Figura 23** – Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga- fungo e pelos contaminantes naturais (CNT) na remoção de FT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** – Características dos efluentes encontrados na indústria de laticínios.

**Tabela 2** – Consumo de água (por leite recebido, L\L) para a fabricação de diversos produtos lácteos.

**Tabela 3** – Componentes dos diferentes tipos de soro do leite.

**Tabela 4** – Geração de soro do leite em relação a produção de queijo para diferentes tipos de leite.

**Tabela 5** – Dados de tratamento aeróbio do soro do leite em diferentes condições.

**Tabela 6** – Dados de tratamento anaeróbio do soro do leite em diferentes condições.

**Tabela 7** – Dados de pH e agitação para um processo de biofloculação com diferentes espécies de fungos e microalgas.

**Tabela 8** – Compilado de estudos que utilizam o consórcio microalga- fungo no tratamento de efluentes.

**Tabela 9** – Caracterização físico-química do soro do leite.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1</b>	Geral.....	14
<b>2.2</b>	Específicos.....	14
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1</b>	Indústria de Laticínios .....	15
	<b>3.1.1</b> Mercado brasileiro.....	17
	<b>3.1.2</b> Principais efluentes gerados.....	19
<b>3.2</b>	Soro do Leite.....	22
	<b>3.2.1</b> Características físico-químicas.....	23
	<b>3.2.2</b> Métodos de Tratamento.....	25
<b>3.3</b>	Fungos Filamentosos e Microalgas.....	29
	<b>3.3.1</b> Consórcio entre o fungo e a microalga.....	32
	<b>3.3.2</b> Características biológicas – fatores nutricionais e ambientais.....	34
	<b>3.3.3</b> Fungos filamentosos e microalgas no tratamento de efluentes.....	36
	<b>3.3.4</b> Fungos filamentosos e microalgas no tratamento do soro do leite....	40
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1</b>	Espécies de Fungos Filamentosos e Microalga.....	41
<b>4.2</b>	Efluente Bruto.....	42
<b>4.3</b>	Sistema de Tratamento – Planejamento Experimental.....	43
<b>4.4</b>	Experimentos Realizados.....	44
	<b>4.4.1</b> Etapa 1– Avaliação dos monossistemas e do sistema microalga-fungo na remoção dos poluentes encontrados no soro do leite.....	44
	<b>4.4.2</b> Etapa 2 – Avaliação do tratamento do soro do leite utilizando fungos filamentosos.....	45
	<b>4.4.3</b> Etapa 3 – Biorremediação do soro do leite utilizando o consórcio microalga-fungo e avaliação da intensidade luminosa.....	45
	<b>4.4.4</b> Etapa 4 – Tratamento do soro do leite utilizando apenas contaminantes naturais (controle).....	46
<b>4.5</b>	Caracterização Físico-química.....	46
	<b>4.5.1</b> Peso seco celular.....	46

4.5.2	Demanda química de oxigênio – DQO (método de digestão de dicromato).....	46
4.5.3	Nitrogênio total – NT (método de Kjeldahl).....	48
4.5.4	Fósforo total – FT (método do ácido ascórbico).....	49
4.5.5	Determinação de pH.....	50
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
5.1	Caracterização do Soro do Leite.....	51
5.2	Avaliação dos Monossistemas (microalga e fungo) e do Sistema Microalga-fungo na Remoção dos Poluentes Encontrados no Soro do Leite.....	51
5.2.1	Remoção da demanda química de oxigênio (DQO).....	52
5.2.2	Remoção dos demais nutrientes (Nitrogênio total e fósforo total)....	53
5.2.3	Produção de biomassa microbiana.....	56
5.2.4	pH.....	57
5.3	Avaliação dos Fungos <i>Penicillium oxalicum</i> e <i>Cunninghamella echinulata</i> no Tratamento do Soro do Leite Utilizando o Reator Coluna de Bolhas.....	59
5.3.1	Remoção de DQO.....	59
5.3.2	Remoção de FT e NT.....	60
5.4	Biorremediação do Soro do Leite Utilizando o Consórcio Microalga-fungo em um Reator Coluna de Bolhas e Avaliação da Intensidade Luminosa.....	63
5.4.1	Remoção de DQO.....	63
5.4.2	Remoção de NT e FT.....	66
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>70</b>
<b>7</b>	<b>TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>72</b>
	<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>85</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O setor industrial, mais especificamente a indústria de alimentos, é responsável pela produção de uma grande quantidade de resíduos líquidos e sólidos. Dentre os segmentos que a compõe, tem-se a indústria de laticínios a qual é responsável por promover a transformação do leite *in natura* em uma série de tipos de produtos, como queijos, iogurtes e o próprio leite. Em escala mundial a indústria do leite possui uma grande relevância econômica e se encontra em plena ascensão, de maneira que seu crescimento permaneceu sólido mesmo com os impactos causados pela pandemia da Covid-19. Em 2020 a produção leiteira atingiu 902,6 bilhões de toneladas e estima-se um crescimento de 1,6% para 2021. No Brasil, essa tendência também é percebida e espera-se uma produção de 37 milhões de toneladas em 2021 (PASSEGGI; LÓPEZ; BORZACONNI, 2012; BOUDEBBOUZ et al., 2021; FAO, 2021; OECD/FAO, 2021).

A indústria de laticínios se destaca por utilizar grandes quantidade de água no seu processo produtivo e como consequência geram um alto volume de efluentes, estimado em 0,2 a 10 L por litro de leite processado. Associado a isso, uma grande preocupação no âmbito ambiental está relacionada a alta carga orgânica que esses resíduos possuem, de modo que ao serem descartados de forma irregular podem ocasionar danos ao solo, aos corpos d'água e assim sendo, ao ser humano (CHOKSHI et al., 2016; AKANSHA et al., 2020; KARADAG et al., 2015; ZKERI et al., 2021; AHMAD et al., 2019).

O soro do leite é um subproduto formado a partir do processo de coagulação das proteínas do leite visando a obtenção da coalhada, ele se evidencia, dentre os demais efluentes gerados pela indústria de laticínios, por ser produzido em quantidades elevadas e conter altas quantidades de poluentes, dentre os quais a demanda química de oxigênio possui valores entre 50.000 e 102.000 mg.L<sup>-1</sup>. Esse subproduto é fonte de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, e compostos com valor agregado, proteínas e lactose, entretanto é uma das grandes preocupações desse segmento industrial, de modo que a legislação que permeia seu descarte está se tornando cada vez mais rígida. É importante ressaltar que a origem animal do leite, as operações unitárias utilizadas e a forma com que o processo produtivo é conduzido são fatores que interferem no grau de poluição desse efluente (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012; PENESAR et al., 2007)

Em razão disso, métodos químicos e físicos são estudados para promover a remediação desse efluentes. Entretanto, os altos custos de implementação e processamento geram obstáculos na implantação dessas unidades de tratamento. Por esse motivo, meios alternativos

estão sendo estudados a fim de tornar esse recurso acessível, principalmente as pequenas e médias indústrias (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012; SOUZA et al., 2010)

A biorremediação é um mecanismo de degradação biológica que utiliza capacidades microbianas para minimizar as concentrações e a toxicidade de uma grande variedade de contaminantes. Os microrganismos interagem física e quimicamente com os poluentes, levando a mudanças estruturais ou à desintegração total obtendo, assim, energia e nutrientes que são utilizados pelas suas funções metabólicas para promover o crescimento e dar origem a novas células (SINGH et al., 2020; AKANSHA et al., 2020).

Os fungos filamentosos são caracterizados por serem microrganismos heterotróficos, saprófagos e com alta capacidade de mineralizar e armazenar vários elementos e íons e acumular materiais tóxicos, em razão disso a sua utilização em processos de tratamento tem sido cada vez mais evidenciada. As microalgas, por sua vez, são organismos que possuem a capacidade de se desenvolver tanto em ambientes aquáticos quanto em efluentes. O seu uso como remediador tem se destacado devido a sua habilidade de utilizar diferentes fontes de carbono e de se adaptar mesmo em condições adversas (YU et al., 2017; LI et al., 2019; MORE et al., 2010; MURPHY, 2015).

A utilização do consórcio microalga-fungo vem sendo bastante estudada devido a capacidade de realização da biofloculação desses microrganismos, o que promove uma recuperação da microalga de forma mais eficiente e com um menor custo. Entretanto, pesquisas apontam, também, os benefícios proporcionados pela utilização desse sistema para remediação de efluentes, de modo que a interação entre eles e o meio permite que ambos favoreçam o crescimento um do outro otimizando, assim, a remoção dos poluentes (LENG et al., 2021; ROSERO-CHASOY et al., 2021).

Nesse contexto, a utilização do consórcio microalga-fungo se apresenta como um potencial método para promover a remoção dos poluentes encontrados em efluentes agroindústrias, atuando de forma mais específica no soro do leite, com uma maior eficiência do que os monossistemas comumente estudados.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Estudar da viabilidade técnica da utilização do consórcio microalga-fungo no tratamento do soro do leite e as vantagens relacionadas a aplicação desse sistema.

### **2.2 Específicos**

- Caracterizar o soro do leite obtido a partir do processo de produção de queijo;
- Avaliar a utilização de diferentes fungos filamentosos e de microalga na remoção de contaminantes encontrados no soro do leite;
- Otimizar parâmetros que influenciam no tratamento, como intensidade luminosa, tempo de retenção hidráulica e carga orgânica (diluição do efluente);
- Comparar a eficiência do tratamento realizado pelo consorcio microalga-fungo com os monossistemas (microalga e fungo filamentoso, individualmente).

### 3 FUDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Ao longo de décadas a atividade industrial tem produzido rejeitos gasosos, líquidos e sólidos nocivos ao ambiente. O setor alimentício se destaca na geração de resíduos líquidos, visto que além de seus processos necessitarem de alto consumo de água, ainda há uma grande geração de efluentes por unidade de produto. A indústria de laticínios, por sua vez, além de produzir uma grande quantidade de efluentes, eles ainda são caracterizados por possuírem um alto poder poluente devido ao seu elevado conteúdo orgânico. O uso de microrganismos na remediação desse tipo de efluente vem sendo uma alternativa promissora aos tratamentos usuais, isso porque, esses biorremediadores além de apresentarem alta eficiência também permitem reduzir os custos do processo. A utilização da simbiose entre a microalga e o fungo filamentosos, tem sido estudada por otimizar o procedimento do tratamento e facilitar a recuperação da microalga.

#### 3.1 Indústria de Laticínios

A indústria de laticínios é um segmento da indústria de alimentos responsável por promover a transformação do leite *in natura* em diversos tipos de produtos, como é o caso do iogurte, da manteiga, do queijo, do leite em pó, o próprio leite e outros itens que possuem essa matéria-prima como principal componente da sua fabricação. Em razão disso, a mesma pode ser considerada uma manufatura essencial por estar associada a base alimentar da sociedade e possuir uma alta influência econômica mundial (MARTÍN-RILO et al., 2015; PASSEGGI; LÓPEZ; BORZACONNI, 2012; KARADAG et al., 2015; BOUDEBBOUZ et al., 2021).

O leite e os alimentos que o tem como base formam um grupo de produtos que possuem alto poder nutritivo devido aos macros e micronutrientes que o constituem, como vitaminas e ácidos graxos, e que influenciam positivamente, por exemplo, no desenvolvimento dos ossos e nas funções imunológicas do corpo humano, principalmente nas crianças. Além disso, o seu consumo contribui para que o organismo humano alcance as quantidades necessárias de ingestão diária de cálcio, magnésio, selênio, riboflavina, vitamina B12 e ácido pantotênico. É importante ressaltar que uma diversidade de fatores, como a espécie do animal leiteiro, sua idade, raça e a composição alimentar que lhe é ofertada, influenciam no aspecto geral do leite (cor e sabor) bem como na sua composição e desta forma, na sua aplicabilidade industrial (MARTÍN-RILO et al., 2015; PASSEGGI; LÓPEZ; BORZACONNI, 2012; KARADAG et al., 2015; BOUDEBBOUZ et al., 2021; FAO, 2020).



Dos produtos lácteos obtidos a partir do leite se destaca, com relação ao grande consumo e comercialização, o leite líquido, sendo encontrado nas formas de leite pasteurizado, leite desnatado, leite padronizado, leite de temperatura ultra alta (UHT) e leite fortificado. Um outro formato do leite é a sua textura em pó que é obtida através de sua desidratação. O leite fermentado, por sua vez, é formado a partir da utilização de microrganismo que promovem a acidificação do meio alcançando os níveis desejados para o processo e gerando, por exemplo, produtos como o iogurte. No caso do queijo, a sua fabricação é caracterizada, de forma geral, pela coagulação da caseína, principal proteína do leite, gerando como subproduto o soro do leite. Entretanto durante esse processo industrial é possível haver variações que promovem a formação de diversos tipos de queijos, os quais podem ser macios, duros, semiduros, curados ou não. Outros típicos produtos obtidos utilizando o leite como matéria-prima são a manteiga, o leite condensado e o creme de leite. (MARTÍN-RILO et al., 2015; PASSEGGI; LÓPEZ; BORZACONNI, 2012; KARADAG et al., 2015; BOUDEBBOUZ et al., 2021; FAO, 2020).

O consumo de produtos processados é maior em países desenvolvidos do que nos que ainda estão em desenvolvimento, os quais consomem produtos lácteos frescos ou pouco processado. Em termos de sólidos oriundos do leite, o segundo produto lácteo mais vendido é o queijo, sendo a Europa e na América do Norte os principais continentes que o consomem. A manteiga, por sua vez, é o alimento lácteo processado mais consumido na Ásia, enquanto na África além do queijo, também se destaca o consumo de leite integral em pó (OECD/FAO, 2021)

Em razão da crescente procura por produtos lácteos, esse setor da indústria necessitou se desenvolver, em escala global, de forma rápida e consistente. A Índia que é atualmente um dos maiores produtores mundiais de leite teve seu crescimento impulsionado durante a década de 1970 e nesse período a mesma se tornou uma potência na fabricação de produtos lácteos. Em 2020 a produção de leite nesse país foi de cerca de 195 milhões de toneladas. Estima-se, ainda, uma taxa de crescimento de 14,8% da indústria de laticínios nesse país entre os anos de 2018 e 2023. É importante ressaltar que a presença da Índia no comércio exterior não é muito expressiva, isso advém do fato de que a mesma só comercializa quantidades marginais com relação a toda a sua capacidade produtiva (VIKRAMAN et al., 2021; AHMAD et al., 2019; OECD/FAO, 2021).

A pandemia causada pela COVID-19 interrompeu diversos tipos de atividades comerciais e devido a isso se tinha uma grande preocupação no setor lácteo visto que, o leite líquido fresco e os produtos lácteos frescos possuem alta perecibilidade em razão do seu alto

teor de água, que é de aproximadamente 85%, e seriam diretamente afetados caso houvesse algum tipo de pausa na cadeia de suprimentos. Entretanto, de acordo com FAO (2021), embora essa crise tenha afetado vários setores da indústria, em 2021 esse segmento aponta perspectivas de crescimento e expansão tanto relacionados ao consumo de leite quanto a fabricação de produtos que o usam como base (FAO, 2021; OECD/FAO, 2021).

Nesse contexto e sob aspecto global em 2020 a produção de leite atingiu aproximadamente 902,6 milhões de toneladas e espera-se um aumento de cerca de 1,6 por cento em 2021, o que equivale a 921 milhões de toneladas. Nesse mesmo ano, é esperado que a Ásia seja o continente com os maiores números de produção de leite, com uma previsão de 388 milhões de toneladas, seguida pela Europa (237 milhões de toneladas) e a América do Norte (113 milhões de toneladas), devido principalmente ao aumento da produção nos Estados Unidos da América. Na América do Sul também há uma perspectiva de crescimento que gira em torno de 1,1 por cento, aproximadamente 83,5 milhões de toneladas, proporcionado pelo aumento da produtividade do Brasil, Colômbia e Argentina (FAO, 2021; OECD/FAO, 2021).

A previsão é que em 2021, países como o Brasil, México, Indonésia e Malásia apresentem números maiores de importação de produtos lácteos e que o comércio global movimente cerca de 88 milhões de toneladas, em equivalentes de leite. Atualmente, os maiores exportadores de laticínios são a Nova Zelândia, a União Europeia e os Estados Unidos, enquanto a China continua ocupando o primeiro lugar em importação, mesmo após aumentar sua produção. Em 2020, a Nova Zelândia enfrentou problemas climáticos que prejudicaram o seu potencial produtivo, entretanto, como a sua produção é, em maioria, voltada para a exportação a mesma continua ocupando um lugar entre os principais exportadores. Já os Estados Unidos e a União Europeia apresentaram uma tendência de crescimento nesse período (FAO, 2021; OECD/FAO, 2021).

Ademais, o prognóstico é que até 2030 a produção mundial de leite continue crescendo cerca de 1,7% ao ano, alcançando até 1,02 bilhões de toneladas, esses números apontam que há uma tendência que esse setor apresente uma evolução maior do que a maioria dos que formam o segmento agrícola. Espera-se, também, que a Índia e o Paquistão representem cerca 30% da produção mundial em 2030 (FAO, 2021; OECD/FAO, 2021).

### **3.1.1 Mercado brasileiro**

O setor de produção de leite no Brasil apresenta uma grande importância tanto no âmbito social quanto econômico. Em 2014, a indústria de laticínios ocupava uma posição entre os três

principais setores da indústria brasileira com relação ao faturamento, nesse mesmo ano a produção de leite foi de 35,124 bilhões de litros correspondendo a 6% da produção mundial, o que tornou o Brasil o 5º maior produtor de leite do mundo. Estima-se que todas as regiões do país apresentem uma produção significativa de leite, entretanto se destacam as regiões sul e sudeste, as quais, em 2016, correspondiam a 71% da produção desse insumo, o que equivale a 24 bilhões de litros (VIKRAMAN et al., 2021; AHMAD et al., 2019; OECD/FAO, 2021; ABIA, 2020).

FAO (2021), realizou um prognóstico no qual espera-se um crescimento da produção de leite no Brasil em cerca de 1% com relação a 2020, o que equivale a 37 milhões de toneladas. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), até o terceiro trimestre de 2021 foram produzidos 18,60 bilhões de litros de leite dentre os quais mais de 90% (18,58 bilhões de litros) foram destinados a indústria. É importante salientar que há uma preocupação com a produção de leite durante esse ano em razão dos indícios que apontam problemas relacionados, principalmente, ao encarecimento da ração animal, especialmente o milho, e as avaliações climáticas que preveem clima seco, em especial nas regiões sudeste e centro-oeste (BÁNKUTI; CALDAS, 2018; IBGE, 2022; FAO, 2021).

Dados apontam que mesmo após a queda na produção de leite que ocorreu efetivamente entre 2015 e 2016 devido à crise econômica, o Brasil se encontra entre os três maiores produtores de leite, ficando atrás somente dos Estados Unidos e da Índia. De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Alimentos (ABIA), em 2020, 58% de toda a produção agropecuária foi processada pela indústria de alimentos e bebidas, o que corresponde a um faturamento equivalente a 10,6% do total do PIB brasileiro. Desses alimentos processados que chegam à mesa do consumidor, 17% são oriundos da indústria de laticínios (FAO, 2019; ROCHA; CARVALHO; RESENDE, 2020).

De todo o leite que é destinado a indústria, 36% são convertidos em queijo, 29% são transformados em manteiga e outras pequenas parcelas são usadas para produção de nata, leite para consumo, leite em pó e demais produtos lácteos. Segundo Cruz *et al.* (2016), em 2014 foram produzidas mais de 1 milhão de toneladas de queijo, sendo a Mozzarella e o Minas frescal os que apresentam maior consumo (OXARAN et al., 2017; AGUIAR et al., 2018; BÁNKUTI; CALDAS, 2018; ABIA, 2020).

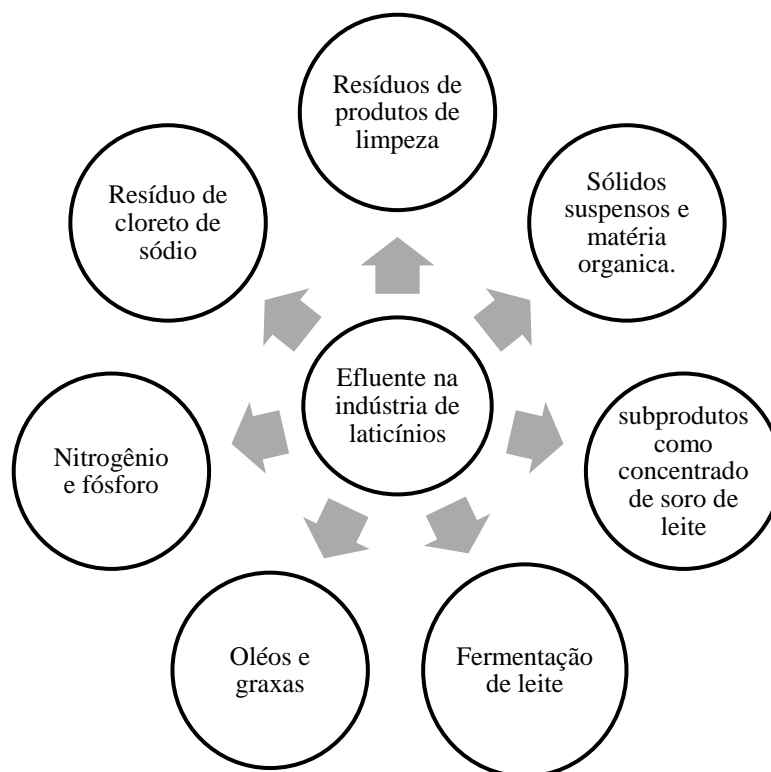
### 3.1.2 Principais efluentes gerados

Dentre as indústrias que mais geram grandes volumes de efluentes, a indústria de laticínios se enquadra com uma produção estimada de 0,2 a 10 L de águas residuais para cada litro de leite processado, gerando cerca de 4 a 11 milhões de toneladas resíduo lácteo por ano. Em países como os Estados Unidos e na Europa, por exemplo, essa indústria é considerada a maior geradora de efluentes agroindustriais. O processo de transformação do leite envolve uma série de operações unitárias como a filtração, separação, pasteurização, resfriamento e homogeneização, que acarretam resíduos sólidos e líquidos. Além disso, tem-se as águas que são utilizadas durante as operações de lavagem e limpeza. Desta forma, a água residual formada nessa indústria é obtida a partir das lavagens de recipientes, tanques, equipamentos e de materiais utilizados na ordenha, das culturas iniciais usadas na fabricação de produtos fermentados, das análises laboratoriais para controle de qualidade, da inserção de diversos aditivos utilizados no processo de produção e da geração de subprodutos no decorrer da fabricação de queijos, sorvetes, entre outros (CHOKSHI et al., 2016; AKANSHA et al., 2020; KARADAG et al., 2015; ZKERI et al., 2021; AHMAD et al., 2019).

Esses resíduos líquidos possuem um volume e uma composição variada, que é influenciada de acordo com o porte da indústria, o modo de operação, o método de fabricação do produto e de limpeza dos equipamentos, as operações unitárias envolvidas, a qualidade da fonte de água utilizada, entre outros, e são caracterizados por altas concentrações de demanda química de oxigênio (DQO), demanda biológica de oxigênio (DBO) e uma diversidade de nutrientes, podendo conter, também, sólidos do leite, lactose, detergentes e agentes sanitizantes, como mostrado na Figura 1 (CHOKSHI et al., 2016; AKANSHA et al., 2020; KARADAG et al., 2015; ZKERI et al., 2021; AHMAD et al., 2019).

De forma geral, os principais efluentes gerados por essa indústria podem ser divididos em dois grandes grupos. As águas residuais de alta concentração possuem em sua composição lactose, gorduras, além de elevadas concentrações de matéria orgânica, o que faz com que elas tenham uma DQO com concentração de até 100.000 mg.L<sup>-1</sup>. Os principais efluentes pertencentes a essa classificação são o soro do leite e o permeado de leite. Já os efluentes de laticínio de concentração média são diferenciados dos demais por possuírem uma concentração de DQO de no máximo 5.000 mg.L<sup>-1</sup> e se enquadram nesse grupo os obtidos a partir da produção de iogurte, manteiga, sorvete e das etapas finais de produção do queijo (ZKERI et al., 2021; KARADAG et al., 2015).

**Figura 1** - Parâmetros comumente encontrados em águas residuais da indústria de laticínios



Fonte: Adaptado de AHMAD et al. (2019).

As águas residuais encontradas nos laticínios são caracterizadas por serem turvas e possuírem coloração branca e odor desagradável. A temperatura desses efluentes é maior do que a de esgotos municipais e está em torno de 17 a 25°C, o que torna o processo de degradação biológica mais efetivo. No caso de parâmetros como pH, DQO e demanda biológica de oxigênio (DBO), tem-se quantidades que estão entre 4,7 e 11, 80.000 e 95.000 mg.L<sup>-1</sup> e 40.000 e 48.000 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Ademais, é muito comum a presença de fósforo e nitrogênio em altas concentrações nesse tipo de efluente. Em se tratando do fósforo, estima-se uma concentração, em média, de 10 a 100 mg.L<sup>-1</sup>, enquanto para nitrogênio a quantidade esperada é em torno de 6% da concentração de DBO (AHMAD et al, 2019; SLAVOV, 2017; KARADAG et al, 2015).

Na Tabela 1 tem-se alguns exemplos típicos de subprodutos gerados pela indústria de laticínios e suas determinadas composições específicas com relação aos parâmetros de maior relevância (KARADAG et al, 2015).

**Tabela 1** – Característica dos efluentes encontrados na indústria de laticínios

Tipo de efluente	pH	DQO (g. L <sup>-1</sup> )	DBO <sub>5</sub> (g. L <sup>-1</sup> )	Nitrogênio (mg. L <sup>-1</sup> )	Fósforo (mg. L <sup>-1</sup> )
Soro do Leite	4,9	68,6	7,71	1120 (TKN)	500
Sorvete	5,2	5,2	2,45	60 (TKN)	14
Permeado de leite	5,5-6,52	55,20-68.6	NA	300-400 (TN)	350-450
Processamento de leite	4,0-7,0	5-10	3-5	20-150 (TKN)	50-70
Laticínio	8-11	2-6	1,2-4	50-60 (TKN)	20-50

DBO<sub>5</sub>: Demanda bioquímica de oxigênio em 5 dias; TN: Nitrogênio Total; TKN: Nitrogênio Kjeldahl total; NA: Não avaliado.

Fonte: Adaptado de KARADAG et al. (2015).

É importante ressaltar que estudos apontam uma certa correlação entre a carga de resíduos e os componentes que constituem o leite. Têm-se, então, que a presença de 1kg de lactose é equivalente a 1,13 kg de DQO, no caso da gordura do leite 1 kg da mesma é igual a 3 kg de DQO e por fim, 1 kg de proteína é proporcional a 1,36 kg de DQO (JAGNMAI; JINKA, 2017).

A problemática referente a essa alta produção de águas residuais está relacionada ao descarte indevido das mesmas podendo gerar diversos riscos, como poluição das águas superficiais e subterrâneas, eutrofização, causada pela presença de elevadas quantidades de nitratos e fosfatos, e, conseqüentemente, desequilíbrio do ecossistema. À medida que essa indústria possui a necessidade de utilizar grandes volumes de água, promover o tratamento de todo esse efluente é um desafio constante. A Tabela 2 apresenta dados sobre o consumo de água (Litro de água por litro de leite) utilizado na fabricação de produtos lácteos em diferentes países (KARADAG et al., 2015; AHMAD et al., 2019).

**Tabela 2** – Consumo de água (por leite recebido, L/L) para a fabricação de diversos produtos lácteos

Produtos	Austrália	Brasil	Finlândia	Noruega	Suécia
Manteiga	2,5	1,1	1,7-8,6	4,6-7	-
Leite em pó	2,5	-	1,7-8,6	4,6-7	1,7-4,0
Iogurte	-	10	1,2-2,9	4,1	0,96-2,8
Queijo	-	-	2,0-3,1	2,5-2,8	2,0-2,5

Fonte: Adaptado de PRAZERES, CARVALHO e RIVAS (2012).

No Uruguai, por exemplo, segundo Passeggi, López e Borzacconi em 2012 tinha-se uma produção de 4 milhões de metros cúbicos de águas residuais oriundas do processamento do leite, o que ocasionou um lançamento de 1,4 milhões de quilos de DQO em corpos hídricos. Na Espanha, tem-se o mesmo cenário, cerca de 12.10<sup>6</sup> metros cúbicos de águas residuais são lançados anualmente, levando a uma descarga de DQO de 4,2 milhões de quilos. Esses dados comprovam a presença de um grande impasse ambiental relacionado a esse tipo de indústria, que está ligado a alta demanda de água utilizada nos processos e a má gestão de seus efluentes (MARTÍN-RILO et al., 2015; AKANSHA et al., 2020).

No Brasil, com relação a produção de resíduos, contabiliza-se uma geração anual de 7,8 milhões de metros cúbico de soro de leite referente a uma produção de 8,67 mil toneladas de queijo. Uma parcela de todo esse resíduo líquido que é gerado é doada para produtores rurais que agregam o mesmo a ração animal, a fim de melhorar sua condição nutricional. Essa ação ocorre, normalmente, por parte dos pequenos laticínios dado que os de médio e grande porte costumam também comercializar uma parte soro do leite para indústrias que realizam o seu processamento ou o utilizam como base da linha de produção. É importante ressaltar que infelizmente o Brasil vem seguindo a tendência mundial, de modo a destinar adequadamente apenas uma quantidade relativa desse resíduo, ocasionando o descarte irregular do mesmo e conseqüentemente problemas de poluição ambiental (CLERICI; LERMEN; DAROIT, 2021; FERREIRA et al., 2018).

### **3.2 Soro do Leite**

Durante o processamento do leite para a produção do queijo e da caseína, são utilizados ácidos ou enzimas proteolíticas para promover a coagulação das proteínas presentes no mesmo formando uma coalhada, ao realizar o seu processo de separação resta o soro ou uma parte aquosa do leite, a qual é denominada de soro do leite. O mesmo se destaca em relação aos demais subprodutos dessa indústria por ser o que é gerado em maior volume. Segundo Ferreira et al. (2018), o queijo é um dos principais produtos da indústria de laticínios e durante o seu processo de produção para cada quilo de produto formado são gerados 9 litros de soro do leite, os quais podem se comportar como um potencial poluidor caso descartado sem o devido tratamento (CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013).

Essa indústria ainda é caracterizada pela geração de mais dois efluentes residuais, além do soro do leite também são produzidos o soro do leite de segundo queijo, obtido a partir da produção do queijo tipo cottage, e as águas residuais. A título de exemplo, segundo Rao e Basak (2021) a produção de soro do leite na Índia é de, em média, 3,3 a 5 milhões de toneladas por ano. Estima-se que 50% do total de soro do leite produzido mundialmente receba algum tipo de remediação ou seja destinado a produção de diversos compostos alimentícios, como é o caso das bebidas lácteas, e o restante seja, então, descartado de forma irregular. (CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013; KASMI, 2016; GANNOUN et al., 2008; PANESAR et al., 2007).

Ao longo dos anos uma série de variações desse subproduto foram testadas a fim de agregar valor ao mesmo. Isso porque, o soro do leite apresenta um alto valor nutricional o que faz com que o mesmo possa ser utilizado para fins terapêuticos através do processamento de

suas proteínas servindo, desta forma, como antioxidante e anti-hipertensivo. Dentre os produtos que podem utilizar o soro do leite como matéria-prima tem-se o fermento, a lactose, o ácido láctico, os concentrados de proteína e uma diversidade de suplementos alimentares. No entanto, as indústrias desse setor ainda investem muito pouco na recuperação de constituintes do soro do leite, que poderiam gerar produtos com alto potencial industrial, e terminam o descartando (KASMI, 2016; AHMAD et al, 2019; GANNOUN et al, 2008; PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012; CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013)

Dentre os efluentes que formam as águas residuais provenientes da indústria de laticínio, o soro do leite se sobressai devido a sua alta carga orgânica e volumétrica. Isso acontece, pois em sua composição há de 4 a 5% de carboidratos, dentre os quais a maior parte é formada por lactose, a qual é caracterizada por altas concentrações de DQO e DBO. Por conta disso, o descarte inadequado desse subproduto pode ocasionar graves problemas ao ecossistema, alterando tanto a composição do solo quanto reduzindo a oxigenação de rios e lagos (SLAVOV, 2017; JESUS et al., 2015; GANNOUN et al., 2008).

### 3.2.1 Características físico-químicas

A composição e o tipo de soro do leite gerado nas indústrias podem apresentar variações influenciadas, principalmente, pelo método de processamento utilizado para realizar a separação da caseína. De forma geral, o mesmo possui coloração amarela-esverdeada e em sua composição tem-se a presença de lipídeos, carboidratos, vitaminas solúveis, minerais e proteínas, além disso seus sólidos totais contêm aproximadamente 75% da lactose presente no meio. Ainda, o mesmo é considerado uma fonte de proteína alimentar e embora seja empregado na fabricação de certos alimentos, ele ainda é bastante desperdiçado (KASMI, 2016; GANNOUN et al., 2008; PANESAR et al., 2007).

O soro do leite pode ser classificado como ácido ou doce a depender do tipo de produto que se deseja obter durante o processamento do leite. O soro do leite doce, por exemplo, é gerado a partir da coagulação da caseína que ocorre normalmente em pH de aproximadamente 6,5, enquanto o ácido possui pH menor que 5 e é formado quando se tem um processo de fermentação ou no caso da utilização de ácidos orgânicos ou minerais para promover a coagulação da caseína, isso ocorre durante a produção de queijos frescos como a ricota e o *cottage*. As diferenças presentes na composição físico-química dos mesmos são mostradas na Tabela 3 (KASMI, 2016; GANNOUN et al, 2008; PANESAR et al, 2007).



**Tabela 3** - Componentes dos diferentes tipos de soro do leite

Componentes	Soro do leite doce (g.L <sup>-1</sup> )	Soro do leite ácido (g.L <sup>-1</sup> )
Sólidos totais	63-70	63-70
Lactose	46-52	44-46
Proteína	6 – 10	6-8
Cálcio	0,4-0,6	1,2-1,6
Fosfato	1-3	2-4,5
Lactato	2	6,4
Cloreto	1,1	1,1

Fonte: Adaptado de PANESAR et al. (2007).

Além de tudo isso, o soro do leite doce também é caracterizado por possuir um menor teor de cinzas e uma maior quantidade de proteínas em relação ao ácido. Isso acontece, pois durante a coagulação ácida o pH do meio se encontra próximo ao ponto isoelétrico da caseína e devido a isso, se tem a precipitação de mais proteínas do leite. Com relação a concentração de cálcio, fica claro analisando a Tabela 3, que ele se apresenta em maior quantidade no soro ácido do que no doce. Esse fato acontece devido ao processo de coagulação ácida, em que o cálcio coloidal é solubilizado e fica, em partes, no soro do leite. Ademais, o uso do soro de leite ácido é bastante restrito devido ao seu alto teor de sal e sabor ácido (PANESAR *et al*, 2007; CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013)

É importante ressaltar que o tipo de leite usado também influenciará na composição do soro de leite que é gerado na indústria. Considerando a composição em base seca, o soro de leite bovino, por exemplo, possui cerca de 70 a 80% de lactose, 9% de proteína, 8 a 20% de minerais e vários outros componentes menores, já em se tratando da relação nitrogênio total/matéria seca, a mesma é muito inferior quando comparada a encontrada no soro de leite ovino, que devido a isso tem a sua concentração de proteína solúvel dobrada. Como já foi citado, além da elevada carga orgânica encontrada nesse subproduto outra preocupação é com relação ao grande volume em que é gerado, na Tabela 4 têm-se uma comparativa de produção do soro do leite com relação ao tipo de leite utilizado na fabricação de queijo (PANESAR et al, 2007; CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013).

**Tabela 4** – Geração de soro do leite em relação a produção de queijo para diferentes tipos de leite

Tipo de Leite	Rendimento da produção de queijo (kg de Queijo/100 kg de leite)	Relação de soro de leite produzido (L/L)
Vaca	9,83	0,873
Ovelha	14,78	0,822
Cabra	9,84	0,872

Fonte: Adaptado de CARVALHO, PRAZERES e RIVAS (2013)

De forma geral, uma das principais características físico-químicas do soro do leite é a sua alta concentração de DQO (50-102 g.L<sup>-1</sup>) e DBO (27-60 g.L<sup>-1</sup>), o que torna a carga orgânica do

mesmo aproximadamente cem vezes maior do que a das águas residuais domésticas comuns. Seus sólidos suspensos totais estão em torno de 1,3 a 22,0 g.L<sup>-1</sup> e a sua salinidade, que possui um valor elevado e uma condutividade de cerca de 8 mS.cm<sup>-1</sup>, é oriunda da adição de NaCl no processo de fabricação do queijo e do tipo de soro que é produzido. Outros componentes que constituem o soro do leite são os ácidos cítrico e láctico (0,02 a 0,05%), compostos de nitrogênio não proteicos, como a ureia e o ácido úrico e vitaminas como a do complexo B (PENESAR et al, 2007; PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012; CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013).

O soro de segundo queijo é o subproduto gerado a partir da utilização do soro do leite para a produção de determinados tipos de queijo. Esse segundo soro possui cerca de 60% da matéria seca do soro do leite, o que o torna igualmente poluente. A DQO encontrada no mesmo é de até 80 g. L<sup>-1</sup> e a lactose (em torno de 50 g.L<sup>-1</sup>), mais uma vez, é o principal constituinte do mesmo e a responsável por essa alta carga orgânica (CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013).

### 3.2.2 Métodos de tratamento

Embora uma parte do soro do leite seja destinada a outros processos ou a alimentação animal, devido a sua alta produção uma quantidade relevante ainda é descartada de forma irregular, causando uma grande problemática no âmbito ambiental. Por isso, esse subproduto vem sendo abordado como um desafio para as indústrias de produtos lácteos visto que, cada vez mais, a legislação que o compete o seu descarte tem se tornado rígida. De forma geral, se tem dois principais tipos de tratamento que podem ser realizados com esse efluente. O processo biológico pode ser mais simples ou mais robusto, enquanto o tratamento físico-químico é cercado de diversas técnicas que podem ser realizadas com o intuito de promover a redução da carga poluidora e recuperar compostos de alto valor agregado (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

#### 3.2.2.1 Tratamento biológico

O tratamento biológico pode ser realizado através de processos de digestão aeróbia ou anaeróbia, isso porque a razão entre a DBO e a DQO encontradas no soro do leite é comumente maior que 0,5, o que caracteriza um substrato facilmente biodegradável. Os primeiros estudos que tratavam da remediação biológica do soro do leite foram iniciados na década de 1970 e abordavam o processo por via aeróbia através da utilização de sistemas como o de lodo ativado

e os filtros de gotejamento. Posteriormente, a via anaeróbia começou a ser estudada e se apresentou como uma solução aos problemas encontrados pelas indústrias de pequeno e médio porte na hora de implementar os reatores aeróbios. Estima-se que durante a digestão anaeróbia são formados 0,1 kg de lodo para cada quilograma de DQO que é degradado, enquanto na aeróbia esse valor é seis vezes maior e ainda, cerca de 0,1 kg permanecem no efluente final (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

A digestão aeróbia é caracterizada por possuir um pequeno tempo de retenção hidráulica em razão da sua alta capacidade de degradar a matéria orgânica mesmo em temperatura ambiente. Com relação a aplicação desse sistema para o tratamento do soro do leite algumas limitações são encontradas. Isso porque o soro do leite bruto possui uma alta carga orgânica que pode proporcionar problemas relacionados a transferência de oxigênio e na sedimentação do lodo. É importante ressaltar que para esse processo a relação ideal entre o carbono, nitrogênio e fosforo é de 100:5:1, respectivamente, diferentemente dos processos anaeróbios onde a quantidade ideal de carbono é cinco vezes maior. Devido a isso, a maioria dos estudos utilizam esse efluente em sua forma diluída para aplicação em sistemas aeróbios. Uma pesquisa realizada por Cordi et al. (2007) avaliou a remediação do soro do leite (DQO:  $54,7 \pm 4,7 \text{g.L}^{-1}$ ) usando lodo ativado em um reator contínuo com diferentes diluições e tempos de retenção. Os autores perceberam que a remoção de DQO atingia valores de até 95% quando utilizado o meio com maior diluição (1/100), enquanto o que possuía uma concentração maior (diluído apenas 10x), teve seus índices de DQO mantidos razoavelmente altos, mesmo com um tempo de retenção 6 vezes maior (36h). A Tabela 5 apresenta alguns dados retirados de estudos que utilizam o sistema aeróbio para realizar o tratamento do soro do leite (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

**Tabela 5** – Dados de tratamento aeróbio do soro do leite em diferentes condições.

Substrato	Condições Experimentais					Resultados	Concentração Residual
	Tipo de Reator	DQO ( $\text{g.L}^{-1}$ )	pH	T ( $^{\circ}\text{C}$ )	HRT (dia)	Remoção de DQO (%)	DQO ( $\text{g.L}^{-1}$ )
Soro diluído	JLMBR <sup>a</sup>	8,4-36	7,6	24	0,82-2,8	84-99	$\leq 5,8$
Soro do leite	NRBC <sup>b</sup>	50	6,50	22	0,33 - 0,67	53-78	10,7-24
Soro do leite	NRBC + UASFF <sup>c</sup>	40-70	6,5	22-36	1,33	96-97,4	1,6-2,6

<sup>a</sup> Jet loop membrane bioreactor; <sup>b</sup> Non-woven rotating biological contactor; <sup>c</sup> Up-flow anaerobic sludge fixed film.

Fonte: Adaptado de PRAZERES, CARVALHO e RIVAS (2012)

Dois tipos de biorreatores se destacam no desenvolvimento desse tipo de processo. O reator de jato com reciclo interno (*Jet loop reactor* – JLBRs) é caracterizado por possuir uma elevada eficiência decorrente do estado de turbulência que ele promove, fazendo com que haja uma alta taxa de transferência e mistura de oxigênio. Além disso, o custo relacionado a sua instalação e ao seu consumo energético é reduzido, tornando a sua aplicação economicamente viável. O biorreator integrado com um sistema de membrana (Bioreactor integrated with membrane system - MBR) também é opção bastante positiva para esse tipo de tratamento, visto que a introdução da membrana promove a separação de sólidos minimizando as principais problemáticas relacionadas a etapa de sedimentação devido a elevada formação de biomassa. Uma outra opção apresentada em estudos é a configuração que integra o reator de jato com reciclo interno com a tecnologia de membrana, esse sistema é conhecido como biorreator de membrana de circuito de jato (*Jet loop membrane bioreactors* – JLMBR). Essa configuração promove uma elevada eficiência no tratamento do soro do leite, mesmo quando se utiliza um substrato com uma alta carga de DQO (3,5-33,5 g.L<sup>-1</sup>). Dentre as suas vantagens, tem-se uma enorme capacidade de se adaptar a variações da carga poluidora que entra no processo e de remoção de compostos como nitrogênio total e fosforo. Entretanto, pode-se ter problemas relacionados a sedimentação do lodo e a com a taxa de fluxo na membrana, a qual tende a diminuir com o tempo de uso (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012; FARIZOGLU; KESKINLER, 2006 ; FARIZOGLU et al., 2004).

No caso da digestão anaeróbia, para esse tipo de efluente ela é realizada em condições mesofílicas, a uma temperatura que varia entre 35 e 37°C. Durante o processo de remediação a quebra das proteínas pela ação das proteases geram produtos como polipeptídios, amônia e aminoácidos. Entretanto, nem todas as proteínas são de fácil degradação pelos microrganismos. Esse é o caso da caseína, principal proteína do leite, sendo assim, em situações como essa é necessário a ação de organismos específicos. Em se tratando dos hidrocarbonetos, diferentemente das proteínas a sua biodegradação ocorre de maneira mais fácil gerando produtos como ácido propiônico, etanol e acetato. Um problema encontrado nessa etapa está relacionado a uma possível inibição parcial na fase de metanogênese, gerada por esses produtos formados com a degradação da lactose (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS., 2012; VIDAL et al., 2000).

Ademais, a via anaeróbia é caracterizada por apresentar uma alta eficiência de remoção da carga orgânica. Contudo, durante o decorrer da digestão as bactérias fermentativas formam ácidos graxos voláteis (AGV) em quantidades superiores ao que o sistema é capaz degradar,

somado a isso, a pouca concentração de carbonato não permite que o mesmo haja como um agente tamponador. Essa série de ocorrências faz com que se tenha uma acidificação do meio de reação, tornando o tratamento anaeróbio instável. Segundo alguns pesquisadores essa problemática pode ser resolvida a partir da adição de compostos alcalinos como cal, hidróxido de sódio, bicarbonato de sódio, entre outros. Outros empecilhos encontrados nessa via de tratamento estão relacionados a dificuldade na biodegradação dos lipídeos e o aumento da viscosidade do meio, o qual ocorre geralmente quando o efluente possui uma DQO maior que  $2 \text{ g.L}^{-1}$  podendo influenciar negativamente na granulação da biomassa levando a sua flotação. A Tabela 6 apresenta um compilado de dados retirados de pesquisas que utilizam o sistema anaeróbio para realizar o tratamento do soro do leite (CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013; JANCZUKOWICZ et al., 2008).

**Tabela 6** – Dados de tratamento anaeróbio do soro do leite em diferentes condições

Substrato	Condições Experimentais					Resultados	Concentração Residual
	Tipo de Reator	DQO ( $\text{g.L}^{-1}$ )	pH	T ( $^{\circ}\text{C}$ )	HRT (dia)	Remoção de DQO (%)	DQO ( $\text{g.L}^{-1}$ )
Soro diluído	UASB <sup>a</sup>	55,7-58,4	4-7	35	2,06-2,46	95-97	1,7-2,7
Soro do leite	CP <sup>b</sup>	60,3-66,7	-	36	7	83	4,7
Soro do leite	TSMAMD <sup>c</sup>	68,6	6,5	37	5	98,5	1,03

<sup>a</sup>Up-flow anaerobic sludge blanket; <sup>b</sup>Contact process; <sup>c</sup>Two-stage mixed anaerobic membrane digester.

Fonte: Adaptado de PRAZERES, CARVALHO e RIVAS (2012)

Para o tratamento do soro do leite por via anaeróbia, é comum a utilização de reatores do tipo Manta de lodo anaeróbico de fluxo ascendente (UASB) e Filtro anaeróbico de fluxo ascendente (UAF). Autores apontam a alta eficiência em tratar o soro do leite em sua forma diluída em reatores UASB, alcançando uma remoção de até 97% de DQO (concentração inicial de  $55,7 - 58,4 \text{ g.L}^{-1}$ ) e alta produção de metano, em um tempo de retenção curto (2,1-2,5 dias). Entretanto, a DQO residual ( $1,7 - 2,7 \text{ g.L}^{-1}$ ) encontrada no efluente tratado ainda possui uma concentração maior do que a permitida para lançamento direto. Devido a isso, Gannoun et al. (2008) avaliou a utilização do reator UAF com um substrato formado pelo soro do leite pré-tratado. Esse tratamento realizado anteriormente buscou reduzir os problemas ocasionados pela gordura e determinadas proteínas. Nesse estudo a remoção de DQO (inicialmente com concentração de  $15 \text{ g.L}^{-1}$ ) foi de 95% e a concentração residual ( $0,75 \text{ g.L}^{-1}$ ) estava em níveis

aceitáveis, além disso obteve-se um alto rendimento de metano (0,28 e 0,38 g.L<sup>-1</sup>) (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012; BLONSKAJA; VAALU, 2006).

### 3.2.2.2 Tratamento físico-químico

Os tratamentos físico-químicos buscam além de reduzir a carga poluidora, a turvação e a quantidade de sólidos suspensos encontrados no soro do leite, também recuperar compostos presentes no mesmo e que possuem alto valor agregado, como é o caso da lactose e das proteínas. A lactose, por exemplo, vem se tornando um produto de grande importância comercial, devido a sua alta aplicabilidade em suplementos alimentares e em produtos farmacêuticos. Os métodos com grande utilização para a remediação desse tipo de efluente são a coagulação-floculação com sais de ferro e os processos eletrolíticos com eletrodo de ferro. No caso de se buscar a rota que permite a recuperação dos componentes dispendiosos é comum a utilização de técnicas como a de coagulação / floculação de quitosana e alginato , coagulação eletroquímica, precipitação ácida, precipitação térmica ou processos de membrana (SOUZA et al., 2010; PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012; CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013)

Esse tipo de técnica de remediação apresenta uma grande eficiência em isolar as proteínas presentes no meio, entretanto o sobrenadante ainda possui elevados teores de DQO devido a presença da lactose, que permanece em partes no meio. Processos como a nanofiltração e a osmose reversa tem se mostrado mais apropriados visto que, além de proporcionar uma recuperação de proteína e lactose em um intervalo de 87 a 100%, também promovem uma remoção da carga orgânica de até 98%. Entretanto, os custos associados a esses tipos de tratamento e os empecilhos relacionados ao pós- tratamento de concentrados e a problemas com as incrustações das membrana, tornam essas técnicas pouco viáveis, principalmente em indústrias de pequeno e médio porte (MIŠÚN; ČURDA; JELEN , 2008; PEREIRA; DIAZ; COBOS, 2002; PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

## 3.3 Fungos Filamentosos e Microalgas

As microalgas são organismos microscópicos, eucarióticos, unicelulares e que, assim como as plantas, realizam fotossíntese e possuem a capacidade de se desenvolver em diferentes tipos de ambientes aquáticos, sejam eles águas doces, marinhas ou residuais, podendo, também, serem encontradas em algumas superfícies. Como esses microrganismos estão presentes em ambientes que permitem um maior contato com água, gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e alguns nutrientes,

a sua capacidade de transformar energia solar em biomassa se torna maior do que as das plantas terrestres. De forma geral, sua composição compreende compostos como proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e lipídeos, sendo que a concentração de cada elemento varia de acordo com o tipo microalga avaliado. Ainda, elas possuem uma estrutura não diferenciada (ausência de folhas, caule e raízes) e podem ser encontradas em dimensões que variam de nanométricas a milimétricas e de forma individual ou em grupos (LI et al., 2019; MANIRAFASHA et al., 2016; TANG et al., 2020; VIEIRA et al., 2020; JANKOWSKA; SAHU; POPIEL, 2017).

O crescimento das microalgas depende da disponibilidade de nutrientes como o carbono (C), tanto na sua forma orgânica quanto inorgânica, o nitrogênio (N), o fósforo (P) e outros elementos que são requeridos de acordo com a espécie. Além disso, as microalgas podem ser cultivadas de forma artificial tanto em ambientes abertos quanto fechados, como lagoas e fotobiorreatores, respectivamente. O uso das mesmas como remediadores tem sido bastante estudado e evidenciado em razão das várias vantagens oferecidas pelo processo, que vão desde o baixo custo de operação e a sua elevada taxa de crescimento, até a utilização da biomassa produzida como matéria-prima de produtos de alto valor agregado como, por exemplo, na produção de biocombustíveis, alimentos e até mesmo na fabricação de produtos químicos finos, como é caso de compostos farmacêuticos e nutracêuticos (LI et al., 2019; MANIRAFASHA et al., 2016; TANG et al., 2020; YU et al., 2017).

A microalga do gênero *Tetradismus obliquus*, antigamente conhecida como *Scenedesmus obliquus*, é caracterizada por ser de coloração esverdeada (membro da família Chlorophyceae), possuir uma alta capacidade de produção de triacilgliceróis, ser altamente eficiente do ponto de vista fotossintético, mesmo em sob condições em que há limitação de nitrogênio, e apresentar uma elevada taxa de crescimento. Seu uso tem sido bastante requerido como matéria-prima para a produção de biodiesel e de outros diversos tipos de produtos que usam material de origem biológica no seu processo de fabricação, como é o caso dos carotenóides. Além disso, a sua utilização como remediador em efluentes está sendo motivo de diversas pesquisas em razão da sua habilidade de utilizar variadas fontes de carbono, orgânico e inorgânico, e de se adaptar mesmo em condições adversas (LEÓN-SAIKI et al., 2020; BENTAHAR; DESCHÊNES, 2022)

Os fungos são microrganismos eucariontes heterotróficos pertencentes ao reino *fungi* e que podem ser constituídos de uma única célula (unicelulares) ou de várias (pluricelulares). Para o seu desenvolvimento, eles precisam de fontes de nutrientes orgânicos e que sejam ricos em energia. Os fungos saprófagos são conhecidos por degradar ou promover a deterioração de

uma ampla variedade de materiais e compostos, devido a isso, a sua capacidade de tratar resíduos na natureza já é conhecida a décadas. Eles são capazes de mineralizar, liberar e armazenar vários elementos e íons e acumular materiais tóxicos. Ainda, estudos comprovam sua alta eficiência na remoção de metais e na degradação e mineralização de componentes como fenóis, hidrocarbonetos de petróleo, entre outros. Essa capacidade de remover uma ampla variedade de compostos está associada ao fato de que esses microrganismos conseguem produzir uma alta gama de enzimas inespecíficas que atuam na degradação de diversas substâncias poluentes. Em razão disso, as culturas fúngicas formam sistemas promissores para a utilização em processos de biotransformação para diversos tipos de compostos, incluindo resíduos sólidos ou águas residuais (efluentes) (SINGH, 2006; AKHTAR; MANNAN, 2020; MORE et al., 2010).

Em comparação com as bactérias os fungos possuem algumas características que os tornam interessantes para a aplicação em processos de biorremediação como, por exemplo, seu modo de crescimento induzido quimiostaticamente em direção à fonte de carbono, o que permite a colonização de grandes áreas, e o sistema de biodegradação fúngico, realizado por enzimas extracelulares. Além disso, os fungos filamentosos possuem resistência a algumas substâncias tóxicas, como metais pesados, e devido a isso estão sendo aplicados no tratamento desse tipo de efluente. Os principais fungos usados nesses casos são dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Saccaromyces* e *Trichoderma*, que desenvolvem biomassas eficientes na remoção desses poluentes em soluções aquosas (CHANDER; ARORA; BATH, 2004; AKHTAR; MANNAN, 2020; MORE et al., 2010).

Os fungos do gênero *Cunnigamella sp.* possuem espécies de grande importância na micologia médica e em processos biotecnológicos sendo encontrados tanto no solo quanto em outros substratos orgânicos. Seus representantes possuem um rápido crescimento e respondem de maneira positiva a variação do meio em que estão inseridos. Além do mais, estudos relatam sua eficiência na metabolização de xenobióticos, incluindo compostos aromáticos e drogas farmacológicas e ainda na bioabsorção de metais pesados. O gênero *Penicillium sp.* é muito utilizado no setor agrícola para controle biológico e nas áreas farmacêuticas e possui grande potencial para ser utilizado em processos de biorremediação, em razão da sua capacidade de degradar matéria orgânica a partir dos mecanismos de desalquilação e desalogenação (MURPHY, 2015; KHAN e MURPHY, 2021; YU et al., 2018).



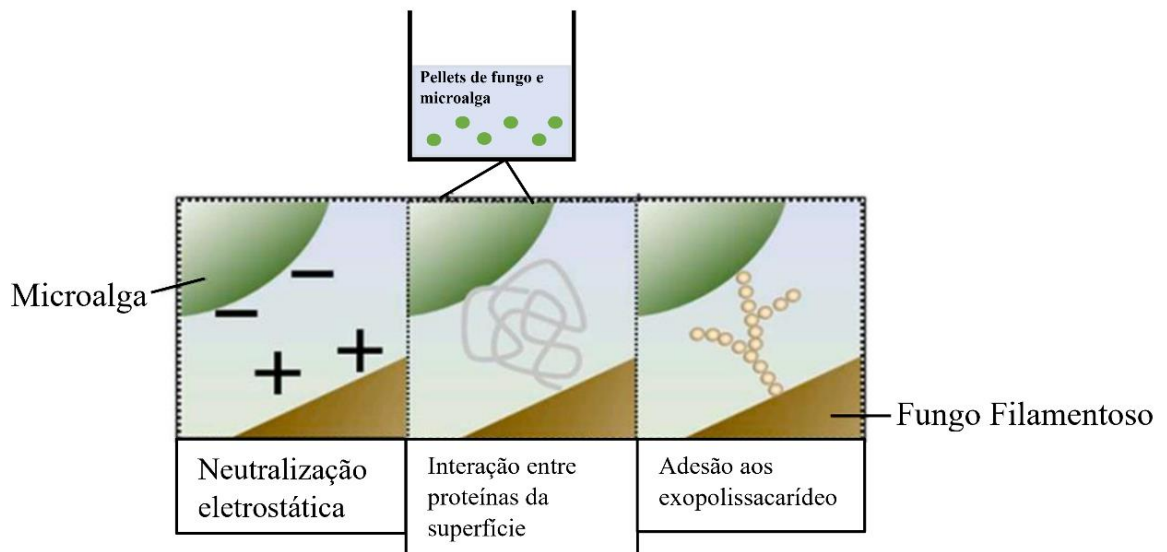
### 3.3.1 Consórcio entre fungos e microalgas

A utilização das microalgas como remediadores no tratamento de efluentes é um método já consolidado no âmbito de gestão ambiental. Entretanto, devido aos altos custos associados a recuperação dessa biomassa, a sua utilização em escala industrial enfrenta certos impasses associados, principalmente, ao tamanho desses microrganismos, a presença de íons negativos na sua superfície, a sua motilidade e a sua baixa densidade molecular. Associado a isso, a aplicação de fungos filamentosos em processos de biorremediação é uma técnica bastante difundida e com um extremo potencial de aplicabilidade. Ainda, a depender do gênero e das condições do meio (como agitação e aeração), os fungos possuem a capacidade de se desenvolver formando *pellets* em culturas submersas, isso ocorre pois durante a fase de crescimento macromorfológico, as hifas se interagem formando esferas fúngicas visíveis, a partir da ocorrência de fenômenos como interações eletrostáticas, hidrofobicidade e interações específicas dos componentes da parede do esporo (LENG et al., 2021; ROSERO-CHASOY et al., 2021).

Desta forma, estudos apontam, que o consorcio formado pela interação das microalgas com os fungos filamentosos, não só proporciona benefícios relacionados a uma maior facilidade na recuperação da biomassa microalgal, através da co-peletização com o fungo, como, também, promove uma melhoria na eficiência na biorremediação de efluentes. É importante ressaltar que como principais vantagens da utilização desse método tem-se a ausência da necessidade de se usar agentes químicos, a formação de pellets que podem ser recuperados por operações simples e a possibilidade de aplicação da biomassa recuperada (LENG et al., 2021; CHEN et al., 2018).

A biofloculação que ocorre no consorcio entre o fungo filamentoso e a microalga, pode ser explicada a partir de três mecanismos diferentes (Figura 2). Como mecanismo primário, as pesquisas apontam uma neutralização de carga, visto que, em pH neutro, na superfície das microalgas existem grupos funcionais de próton-ativo carboxílico, fosfórico, fosfodiéster, hidroxila e amina, que fazem com que ela fique carregada negativamente. Em contrapartida, o os fungos possuem carga positiva e desta forma, funcionam como floculantes catiônicos que tendem a neutralizar essas cargas encontradas na microalga, adsorvendo, assim, suas células. Os demais mecanismos ocorrem através da interação entre proteínas de superfície e da adesão das microalgas aos exopolissacarídeos excretados pelos fungos (LENG et al., 2021; LI et al., 2017).

**Figura 2** – Mecanismos de biofloculação entre os fungos e as microalgas



Fonte: Adaptado de LENG et al. (2021)

Alguns autores relatam que o processo de biofloculação pode ser influenciado diretamente pelo pH do meio. Entretanto não se tem, ainda, um consenso sobre qual faixa de pH seria a ideal para aplicar nesse tipo de processo, isso porque a depender da espécie se tem uma variação na sensibilidade proporcionada por esse fator. Desta forma, é necessário adaptar o pH a situação específica que está sendo empregue no meio em concordância com o tipo de método de colheita que será utilizado posteriormente, ainda é razoável a utilização de fungos que consigam se adaptar a uma ampla faixa de pH em razão do desenvolvimento das microalgas serem beneficiados em pH alcalino. Na Tabela 7 tem-se alguns exemplos de faixas de pH ótima para o processo de biofloculação (LENG et al., 2021; CHEN et al., 2018; LI et al., 2017, PEI et al., 2020).

A quantidade inicial de inóculo também influencia o processo de biofloculação, isso porque segundo Leng et al. (2021) a utilização de uma grande quantidade de esporos não proporciona a formação dos pellets de microalga e fungo. Esse fenômeno pode estar relacionado ao fato de que uma alta concentração de esporos promove uma interação entre as hifas dos fungos nas etapas iniciais fazendo com que não haja a formação dos pellets. Um estudo realizado por Chen et al. (2018) avaliou as concentrações de esporos utilizadas no meio e a sua atuação no processo de biofloculação, os autores perceberam, então, que houve formação de pellets em concentrações de esporos que estavam em um intervalo de  $10^2$  a  $10^4$  esporos.mL<sup>-1</sup>, sendo descartados valores acima destes.

Por fim, a agitação é um fator de suma importância no desenvolvimento dos pellets, visto que a sua interferência afeta não só na compactação, mas também no tamanho deles. Porém não há uma definição entre os autores sobre qual a faixa ótima de agitação para formação dos pellets entre as microalgas e os fungos. Até o momento o que se sabe é que a utilização de níveis extremos de agitação (muito fraca ou forte) não são favoráveis para o processo de biofloculação (LENG et al., 2021; ZHAO et al., 2019; LUO et al., 2019).

**Tabela 7** – Dados de pH e agitação para um processo de biofloculação com diferentes espécies de fungos e microalgas

Espécie Fúngica	Espécie de Microalga	pH inicial ótimo	Agitação (rpm)	Tempo de Colheita (h)	Eficiência da Colheita (%)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Chlorella sp</i>	3	100	2,5	64,9
<i>A. niger</i>	<i>C. vulgaris</i>	6	160	12	91,3
<i>A. niger</i>	<i>Scenedesmus sp.</i>	8	160	48	99,4
<i>A. oryzae</i>	<i>Synechocystis sp.</i> PCC 6803	7,4	NA	48	98

NA- Não Avaliado

Fonte: Adaptado de LENG et al. (2021)

### 3.3.2 Características biológicas - fatores nutricionais e ambientais

De acordo com Barsanti e Gualtieri (2014), o crescimento das microalgas em efluentes está diretamente ligado as suas funções metabólicas e por isso elas necessitam que o meio tenha disponibilidade de fontes de nutrientes como fósforo, nitrogênio, além de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) ou alguma matéria orgânica que possa ser utilizada como fonte de carbono em meio ao processo de síntese de proteínas, ácidos nucleicos e fosfolipídios.

A relação entre C/N e N/P influenciam não só na assimilação dos poluentes como, também, na concorrência da microalga com as demais espécies de microrganismos presentes no meio. Estudos apontam que a ocorrência de um bom tratamento em efluentes, quando utilizam-se esses microrganismos, precisando de teores de N, P e DQO que estejam em torno de 130, 200 e 2250 mg/L, respectivamente. Ainda, os pesquisadores avaliam a influência positiva gerada pela adição de CO<sub>2</sub> visto que, alguns estudos apontaram que o aumento desse componente ocasiona uma elevada da produção de biomassa microalgal e um maior potencial de remoção de poluentes, principalmente quando associada a certas intensidades de luz (JANKOWSKA; SAHU; POPIEL, 2017).

Os efluentes urbanos, em sua maioria, não são ambientes favoráveis para um crescimento acelerado da biomassa microalgal devido a deficiência nos níveis de C, N e P. Segundo a literatura, nesses efluentes, para que se tenha uma redução eficiente de DQO a razão

ideal entre carbono e nitrogênio deve ter valores entre 5 e 10, no entanto; se essa relação possuir valores próximos a 20 o crescimento das microalgas é prejudicado e como consequência, a redução dos poluentes. De acordo com Li et al. (2019), em se tratando da razão entre nitrogênio e fósforo, valores de 6,8 a 10 são ideias para o desenvolvimento microalgal e o efetivo tratamento de efluentes. Cabe ressaltar que as condições nutricionais do meio podem ser alteradas para que os microrganismos presentes se cresçam de maneira efetiva e tornem promissor o tratamento biológico de efluentes (MORONE et al., 2019; SCHENK et al., 2008).

A luz é um dos principais fatores que influenciam no crescimento das microalgas, de maneira que tanto a disponibilidade de luz (claro/escuro) quanto a sua intensidade causam variações nesse microrganismo. Um estudo realizado por Li et al. (2019) mostrou que ao utilizar a relação claro/escuro de forma equilibrada (12h/ 12h) (ciclo dia/noite) tem-se uma remoção de fósforo total muito menor do que quando o meio é exposto a luz de forma contínua. Outras pesquisas avaliam o efeito da intensidade de luz e apontam que o aumento da sua intensidade proporciona um maior consumo de DQO e nitrogênio pelas microalgas, entretanto a remoção de fósforo é prejudicada, mas isso ainda não chega a ser consenso, tendo estudos que mostram que excesso de luz pode prejudicar o consumo heterotrófico de contaminantes pelas microalgas (MORONE et al., 2019; SCHENK et al., 2008, LI et al., 2019).

Diferentemente das microalgas, os fungos filamentosos são seres heterotróficos e devido a isso a adição de carbono em sua forma orgânica é essencial para o seu desenvolvimento, ademais eles possuem a capacidade de metabolizar diversos tipos de substâncias orgânicas e o seu crescimento em efluentes pode ser na forma de micélios dispersos ou pastilhas compactas. Além de produzirem de forma espontânea metabólitos secundários, esses microrganismos têm como características positivas a capacidade de se desenvolver mesmo em pH e temperaturas baixas e pouca disponibilidade de nitrogênio. Esses atributos permitem que o fungo consiga se desenvolver mesmo quando expostos a condições adversas (MORE et al., 2010)

Ao utilizar o consorcio entre esses dois microrganismos, o fungo atuará consumindo o carbono que é liberado pelas microalgas no meio devido ao processo de fotossíntese (geralmente carboidratos), ao mesmo tempo que age como um protetor para elas em razão do seu potencial de reter água. Nesses casos, é importante garantir que o meio contenha níveis suficientes de nutrientes que permitam o desenvolvimento efetivo de ambos, isso porque embora o fungo tenha a capacidade de excretar enzimas hidrolíticas e assim quebrar a parede celular das microalgas e utilizar seus polissacarídeos como fonte de nutrientes, o déficit de substâncias orgânicas importantes pode limitar o crescimento dos esporos, diminuindo a

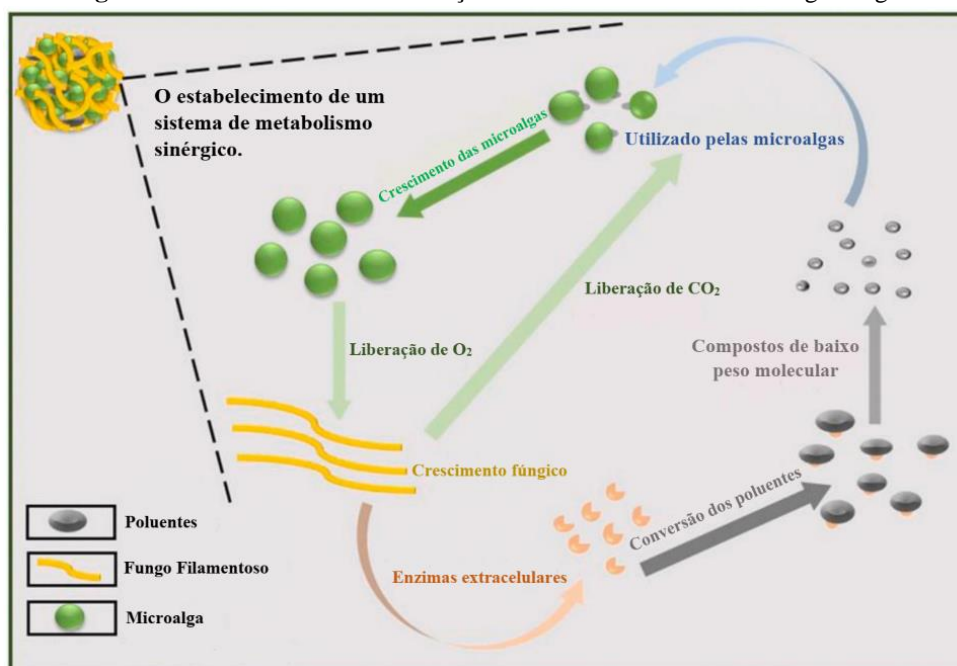
capacidade de formação de pellets com as microalgas e por fim, reduzindo a eficiência do tratamento biológico (LI et al., 2020; RAY; NAYAK; GHOSH, 2022; LI; ZHANG; YANG, 2019).

### 3.3.3 Fungos filamentosos e microalgas no tratamento de efluentes

Com relação ao tratamento de efluentes, as microalgas possuem a capacidade de remover; principalmente, nitrogênio, fósforo e íon metálicos pelos mecanismos de assimilação e bioissorção, o que envolve adsorção e absorção. Enquanto a remediação realizada pelos fungos ocorre através de processos de bioissorção e bioacumulação. Estudos relatam o benefício de se utilizar o sistema microalga-fungo para a biorremediação de efluentes não só pela maior facilidade na coleta das microalgas, como também pela contribuição que ocorre de forma bilateral entre esses microrganismos e que proporciona uma maior eficiência na remoção de poluentes do que quando comparado a um monossistema (RUGNINI et al., 2019; CHU et al., 2021).

A demanda química de oxigênio (DQO), o fósforo total (PT) e o nitrogênio total (NT) são importantes parâmetros medidos para quantificar a carga poluidora de um efluente. De acordo com Leng et al. (2021) quando a biorremediação é realizada através do consórcio microalga-fungo as altas taxas de remoção de DQO são alcançadas quando se mantem o sistema sob condições que permitam um crescimento heterotrófico ou mixotrófico, entretanto é importante salientar que valores elevados desse indicador podem levar a inibição do crescimento desses microrganismos. No efluente é possível encontrar dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) na forma de bicarbonato o qual é transformado pelas microalgas, através da anidrase carbônica, em  $\text{CO}_2$  livre ou absorvido como carbonato. Esse  $\text{CO}_2$  livre é consumido pelas células das microalgas e levado para o ciclo de Calvin gerando oxigênio e demais matérias orgânicas utilizadas no processo metabólico dela. No caso do oxigênio, ele é absorvido pelos fungos filamentosos para realizar a respiração celular, eles também atuam na remoção de DQO através da excreção de enzimas extracelulares que agem na deterioração dos sólidos em suspensão, garantindo assim o consumo efetivo da matéria orgânica e ainda, devolvendo o  $\text{CO}_2$  para o meio e deixando-o disponível para utilização células das microalgas. Essa troca gasosa decorrente da simbiose entre esses microrganismos favorece o desenvolvimento da biomassa de ambos e ainda permite o consumo do carbono presente no meio, conforme mostrado na Figura 3 (LENG et al., 2021; CHU et al., 2021).

**Figura 3** – Mecanismos de remediação através do consórcio microalga-fungo.



Fonte: Adaptado de CHU et al. (2021)

Estudos apontam que a remoção de DQO é em grande parte realizada pelos fungos em razão do seu modo de crescimento heterotrófico que faz com que ele utilize o carbono orgânico como fonte de energia e de principal forma de consumo de carbono reduzindo, desta forma, os níveis desse indicador eficientemente. Ademais a capacidade do fungo de promover a quebra das macromoléculas encontradas no meio em elementos solúveis e de baixo peso molecular possibilita a utilização direta desses nutrientes pelas microalgas (Figura 3) e com isso tem-se o aumento da capacidade desses microrganismos de remover poluentes em águas residuais, através do mecanismo de assimilação. É importante ressaltar que fatores como a espécie do microrganismo utilizado, o tipo de efluente e a forma com que é conduzida o processo (disponibilidade de CO<sub>2</sub>, iluminação, entre outros), podem interferir na efetividade do tratamento (LENG et al., 2021; CHU et al., 2021).

Em se tratando do nitrogênio, esse elemento é de suma importância para o crescimento desses microrganismos e pode ser encontrado na matéria orgânica, por exemplo, em proteínas, na clorofila e nas enzimas. Em efluentes é comum se ter esse componente também na sua forma inorgânica, como amônia (NH<sub>3</sub>), nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). Em forma orgânica, se encontra como uréia, proteínas e aminoácidos. Dentre os modos na qual o nitrogênio se apresenta no meio, pode-se elencar como o poluente de maior importância a amônia, a qual é encontrada em grande quantidade e como íons de amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e nitrogênio amoniacal livre. O formato NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

requer um menor gasto energético para ser consumido pelos microrganismos e em razão disso, é a primeira fonte de nitrogênio a ser utilizada, de modo que as formas oxidadas do mesmo só são consumidas após a redução, quase que total, desse formato. Pesquisas apontam que as microalgas são mais eficientes na metabolização do nitrogênio do que os fungos, elas o consomem pelo mecanismo de assimilação e o usam na sintetização de proteínas, fosfolipídios e ácidos nucleicos. Além disso, estudos mostram que o sistema microalga-fungo possui uma maior eficiência na remoção desse composto do que o monossistema (CHEN; WANG, 2020; LENG et al., 2021; CHU et al., 2021).

O fósforo, por sua vez, está associado diretamente ao desenvolvimento dos microrganismos visto que, macromoléculas importantes o possuem em sua composição, assim como os grupos fosfatos são necessários para o processo de conversão de energia. Esse componente é transportado para as células das microalgas em sua forma inorgânica, como  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ , por meio de fosforilação ou fotofosforilação e incorporado em compostos orgânicos, esse processo também ocorre no caso dos fungos, exceto as etapas que envolvem a fotossíntese. Esse mecanismo com que o fósforo é consumido por esses microrganismos garante uma alta eficiência da remoção do mesmo em águas residuais, principalmente quando utiliza-se o consorcio entre eles. É importante ressaltar que taxa de remoção desse poluente pode ser influenciada por fatores como o pH do meio e a quantidade de oxigênio dissolvido (WANG et al., 2014; LENG et al., 2021; CHU et al., 2021).

Em Shen e Chirwa (2020) foi avaliada a capacidade de adsorção do ouro por pellets, formados pela biofloculação das microalgas e fungos, vivos e liofilizados. Nessa pesquisa utilizou-se o fungo *Aspergillus niger* e a microalga *Tetradismus obliquus* e os pellets foram formados previamente seguindo as condições ótimas determinadas pelo método de Taguchi. Esse sistema foi utilizado para remediar águas residuais contendo ouro ( $30 \text{ mg.L}^{-1}$ ) em um reator sequencial em batelada do tipo coluna e apresentou uma alta especificidade e seletividade ao Au (III), além de um percentual de adsorção de 97,77%.

Srinuanpan et al. (2018), utilizou os pellets formados pelo fungo *Trichoderma reesei* e pela *Scenedesmus sp.* para remediar efluentes secundários (pH de 7,7,  $1,239 \text{ mg.L}^{-1}$  de DQO,  $144 \text{ mg/L}$  de NT e  $18,6 \text{ mg.L}^{-1}$  de PT), não estéreis, gerados pelas indústrias de processamento de frutos do mar. O estudo mostrou que a utilização do consórcio resultou em uma remoção de 74% da DQO, 44% do NT e 93% do PT, o que torna o processo de tratamento altamente eficiente.

Em Zhou et al. (2012), a co-cultura foi formada pelo fungo *Aspergillus sp.* e a microalga *Chlorella vulgaris* e utilizada na remediação de águas residuais municipais. O processo foi conduzido sob agitação de 100 rpm durante 24 horas e alcançou percentuais de remoção de 62,5%, 58,9% e 89,8% para DQO, NT e PT (Concentrações iniciais de  $1660 \pm 40,1 \text{ mg.L}^{-1}$  de DQO,  $97.2 \pm 6.8 \text{ mg.L}^{-1}$  de NT e  $51.2 \pm 7.2 \text{ mg.L}^{-1}$  de PT), respectivamente.

Bodin et al. (2016) utilizou o consórcio formado pela microalga *Chlorella vulgaris* e o fungo *Aspergillus niger* para o tratamento de grupos farmacêuticos normalmente encontrados em ambientes aquáticos. Os autores mostraram que a utilização dos bio-pellets foi eficaz na remoção dos 7 tipos de substâncias analisadas (com concentração inicial entre 8 e 11  $\text{mg.L}^{-1}$ , cada), em especial para a ranitidina, em que o percentual de remoção de  $50\% \pm 19\%$ .

A tabela 8 resume os estudos mostrados acima e traz outras pesquisas que utilizaram o consórcio microalga-fungo para promover a remediação de diferentes tipos de efluente, constatando a viabilidade desse sistema de tratamento.

**Tabela 8** – Compilado de estudos que utilizam o consórcio microalga-fungo no tratamento de efluentes.

Espécie de microalga	Espécie de Fungo	Tipo de efluente	Principais resultados	Referência
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Aspergillus sp</i>	Águas residuais municipais	Remoção de no mínimo 74% para DQO; 44% para NT e 93% para PT.	ZHOU et al. (2012)
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Águas residuais compostas por grupos farmacêuticos	Remoção de 7 tipos de substâncias, em especial da ranitidina (50%)	BODIN et al. (2016)
<i>Tetrademus obliquus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Águas residuais contendo ouro	Adsorção de 97,77% do Au (III) presente no meio.	SHEN;CHIRWA (2020)
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Pleurotus geesteranus</i>	Água residual da fermentação anaeróbia do esterco do porco + biogás.	Remoção de 86,57% da DQO, 87,47% do NT, 85,21% do PT e 72,41% do $\text{CO}_2$ .	XU et al. (2022)
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Águas residuais de mandioca	Aumento da remoção dos poluentes do que ao utilizar apenas a microalga de 62 para 78% para PT e de 39 para 51% no caso da DQO.	PADRI et al. (2022)
<i>Chlorella sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	Águas residuais de melaço	Remoção de 70,68% da DQO, 67,09% do NT e 88,39% do PT.	YANG; LI; WANG (2019)
<i>Scenedesmus sp.</i>	<i>Trichoderma reesei</i>	Água residual obtida pelo processamento de frutos do mar	Remoção de no mínimo 74% para DQO; 44% para NT e 93% para PT.	SRINUANPAN et al. (2018)
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Ganoderma lucidum</i>	Águas residuais de suínos	Remoção de 79,74% da DQO, 74,28% do NT e 85,37% do PT.	GUO et al. (2017)
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Ganoderma lucidum</i>	Pasta de biogás e biogás bruto	Remoção de 76,35% da DQO, 78,77% do NT e 79,49% do PT.	ZHANG et al. (2021)

Fonte: Autora (2021)



### 3.3.4 Fungos filamentosos e microalgas no tratamento do soro do leite

Em se tratando do soro do leite, ainda não se tem artigos na literatura que utilizem o consórcio desses microrganismos para realizar o tratamento dele. Entretanto, há uma série que discutem a remediação realizada individualmente por cada um deles.

Em Riaño et al. (2016) com o intuito de obter a biomassa, a microalga do gênero *Chlorella sorokiniana* foi inoculada em um soro do leite que passou previamente por um tratamento realizado de forma anaeróbia. O experimento foi conduzido em um fotobiorreator aberto agitado mecanicamente e continuamente iluminado, usando quatro lâmpadas fluorescentes a  $54 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Após um tempo de retenção hidráulica de 5 dias além do desenvolvimento microalgal ( $0,76 \text{ g.L}^{-1}$ ), também foi obtido percentuais de remoção de 94%, 92% e 20% para demanda química de oxigênio solúvel (inicialmente a  $16,7 \text{ g.L}^{-1}$ ), amônio (inicialmente a  $735 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e fósforo solúvel (inicialmente a  $87 \text{ mg.L}^{-1}$ ), respectivamente.

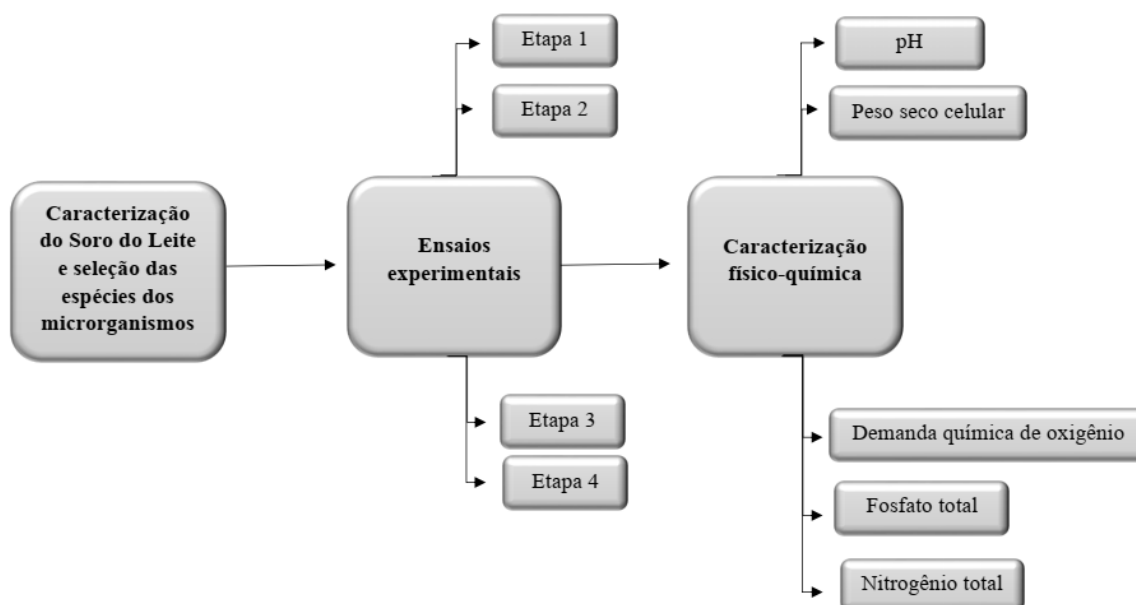
Patel, Joun e Sim (2020), estudaram a utilização do cultivo mixotófico da microalga *Chlorella Protothecoides* para realizar a remediação do soro do leite (pH 5-6; DQO:  $17806,36 \text{ mg.L}^{-1}$ ; NT:  $383 \text{ mg.L}^{-1}$ ; PT:  $397 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os autores, submeteram o soro do leite a um pré-tratamento químico e a diluições, visando adequá-lo para o microrganismo em questão. O processo de tratamento foi realizado sob constante iluminação ( $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) e agitação (120 rpm), em incubadora, durante um período de retenção hidráulica de 9 dias. A maior eficiência foi obtida ao utilizar uma diluição de 25:75, atingindo uma remoção de 92,6% da DQO, 98,4% de NT e 79,9% de PT.

No caso dos fungos, Djelal e Amrane (2013), utilizou um consórcio entre os fungos *Aspergillus niger*, *Mucor hiemalis* e *Galactomyces geotrichum* para tratar três diferentes formulações de águas residuais provenientes da indústria de laticínios (soro do leite sintético, água residual de laticínios sintética e uma real). O tratamento foi realizado em escala laboratorial (4 L), piloto (110 L) e posteriormente em escala industrial (600L), em ambos os casos a o meio foi submetido a agitação, aeração e a remoção de poluentes foi mais efetiva quando utilizado a biomassa fúngica pré-cultivada no mesmo meio, atingindo um consumo de DQO (com concentração inicial variando entre 1500 e 2000  $\text{mg. L}^{-1}$ ) de até 75%. Além disso, o estudo mostrou que o ao inocular os fungos no meio a remediação se torna mais eficiente do que ao utilizar apenas os contaminantes naturais presentes no meio.

## 4 METODOLOGIA

Inicialmente, a metodologia consistiu em coletar o efluente estudado (soro do leite) na unidade geradora e em seguida realizar a sua caracterização, quantificando, assim, a sua carga poluidora a partir da determinação de parâmetros como a demanda química de oxigênio (DQO), o nitrogênio total ( $\text{mg N.L}^{-1}$ ) e o fosfato total ( $\text{mg PO}_4^{3-}.\text{L}^{-1}$ ). Além disso, a etapa inicial contou, também, com a seleção das cepas de microalga e fungo filamentosos que seriam utilizados durante o desenvolvimento do estudo. Posteriormente foram realizados os ensaios experimentais de forma sequenciada e as amostras coletadas foram caracterizadas conforme as análises citadas, como mostrado na Figura 4.

**Figura 4** – Fluxograma de processo das etapas realizadas para o desenvolvimento da pesquisa.



Fonte: AUTORA (2021)

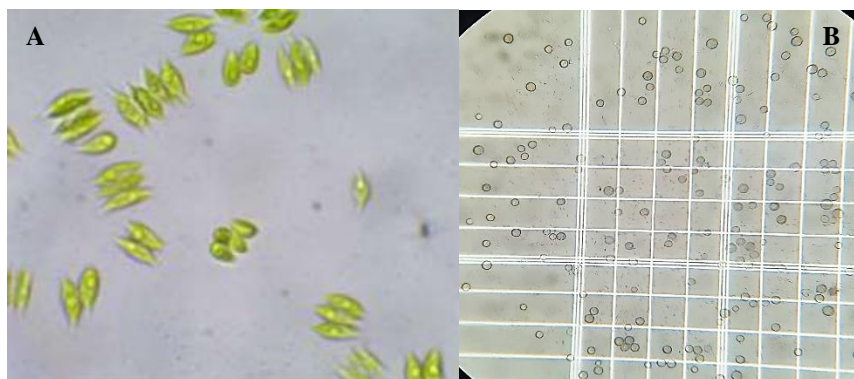
### 4.1 Espécies de Fungos Filamentosos e Microalga

A microalga utilizada foi a espécie *Tetradismus sp.* LCE-01 (Figura 5 A). Ela é mantida em meio solidificado de ágar nutriente (Kasvi®), Figura 6 (A), e em meio líquido para uso como inóculo de BG-11 (blue-green medium) (RIPPKA et al., 1973).

As espécies de fungos filamentosos usados nesse estudo foram *Penicillium oxalicum* Currie & Thom URM 7170 (Figura 5 B) e *Cunninghamella echinulata* (Thaxt) UR-M 7150, adquiridas frente a Micoteca URM da Universidade Federal de Pernambuco. As espécies fúngicas foram mantidas em meio BDA (Batata Dextrose Agar), Figura 6 B. esterilizado à

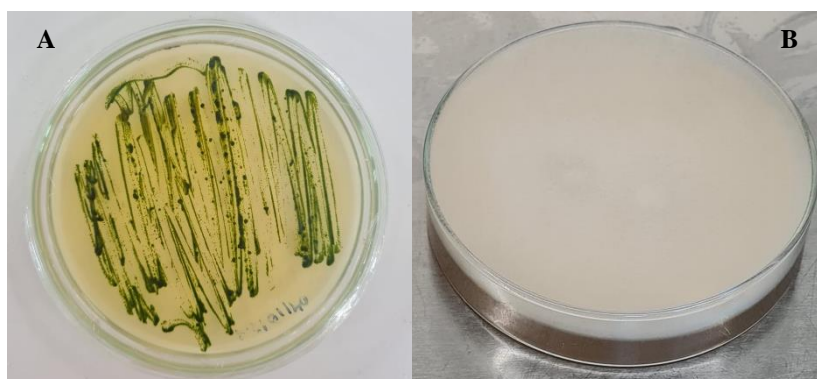
121°C, 1 atm por 15 min em autoclave. Após seu crescimento, durante um período médio de 10 dias, os esporos foram coletados por uma solução estéril de Triton 0,1% (v/v) para formar a suspensão de esporos, a qual teve sua concentração determinada a partir do procedimento de contagem em câmara de Neubauer.

**Figura 5-** Imagem de microscópio óptico da microalga *Scenedesmus sp.* LCE-01 com aumento de 1000x e dos esporos do fungo filamentosso *Penicillium oxalicum* com um aumento de 40x.



Fonte: AUTORA (2021)

**Figura 6 –** Meios de manutenção para a microalga (A) e o fungo filamentosso (B)



Fonte: AUTORA (2021)

## 4.2 Efluente Bruto

O soro do leite foi coletado no Instituto Federal de Alagoas – Campus Satuba (9°34'29.08"S 35°49'15.25"O) em abril de 2021, sendo um subproduto da produção de queijo coalho. Ele foi conduzido ao Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos (LTBA) no Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas, onde passou por um processo de separação de partículas sólidas grosseiras através de filtração simples, em papel de filtro

qualitativo, e centrifugação (3500 rpm e 15 min) para remoção apenas da parte líquida solúvel, e por fim; o efluente foi congelado (-18 a -12°C).

### 4.3 Sistemas de Tratamento – Planejamento Experimental

Durante o desenvolvimento da pesquisa foram utilizadas três configurações para o sistema de tratamento. A primeira configuração foi usada no desenvolvimento dos testes iniciais (etapa 1) sendo utilizados erlenmeyers de 250 mL os quais continham 100 mL de soro do leite e foram colocados sob agitação (90 rpm) em shake (TECNAL, modelo TE -424) e luminosidade constante (Em torno de  $40 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), conforme ilustrado pela Figura 7.

**Figura 7** – Sistema de tratamento conforme a primeira configuração.



Fonte: AUTORA (2021)

A segunda e a terceira configuração utilizavam frascos \u00e1treos cil\u00edndricos Drechsel de 500 mL (60 mm de di\u00e2metro externo), os quais simulam o comportamento de um reator coluna de bolhas, e receberam 400 mL de volume \u00fasil. A diferen\u00e7a entre essas duas configura\u00e7\u00f5es est\u00e1 relacionada a presen\u00e7a de ilumina\u00e7\u00e3o artificial (Plafon LED 25W 6500K) na terceira configura\u00e7\u00e3o. Essa incid\u00eancia luminosa ocorreu de forma constante e em intensidade diferentes (medidas com um radi\u00f4metro Delta Ohm 2302.0), 50 e  $100 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Em ambos os casos o sistema foi aerado com o uso de um compressor (JEBO 660;  $2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) ligado a cada reator, conforme a Figura 8.

**Figura 8-** Sistema de tratamento conforme a terceira configuração.



Fonte: AUTORA (2021)

#### **4.4 Experimentos Realizados**

O desenvolvimento da parte experimental desse estudo foi realizado em etapas. Em todas elas foram utilizadas o efluente real (soro do leite) em 4 concentrações (0,5%, 1%, 2% e 4%), as quais foram estabelecidas por estudos anteriores que avaliaram a toxicidade da carga orgânica presente nesse substrato com relação a microalga. O pH desses meios foram ajustados conforme a necessidade do microrganismo utilizado, desta forma para meios com apenas microalga o pH foi mantido entre 8 e 8,5, enquanto para o fungo filamentoso e o consócio microalga-fungo o pH foi conservado entre 7 e 7,5. É importante ressaltar o controle de pH ocorreu diariamente, principalmente em sistemas que utilizavam apenas a microalga. A compilação das condições experimentais de tratamento promovidas nas etapas seguintes está disposta no apêndice A.

##### **4.4.1 Etapa 1 – Avaliação dos monossistemas e do sistema microalga-fungo na remoção dos poluentes encontrados no soro do leite**

Essa etapa teve por intuito comprovar a hipótese de que o consócio formado pela microalga e o fungo filamentoso possui uma maior eficiência na remediação do efluente do que os monossistemas. Para isso foram montados 3 sistemas de tratamento para cada concentração do soro do leite estudada, sendo o primeiro formado apenas pelo fungo, o segundo apenas pela microalga e o terceiro pela junção de ambos. O processo de remediação foi realizado durante um tempo de retenção hidráulica de 7 dias (168 h) e as amostras foram coletadas apenas no final desse período.

#### 4.4.2 Etapa 2 – Avaliação do tratamento do soro do leite utilizando fungos filamentosos em um reator coluna de bolhas.

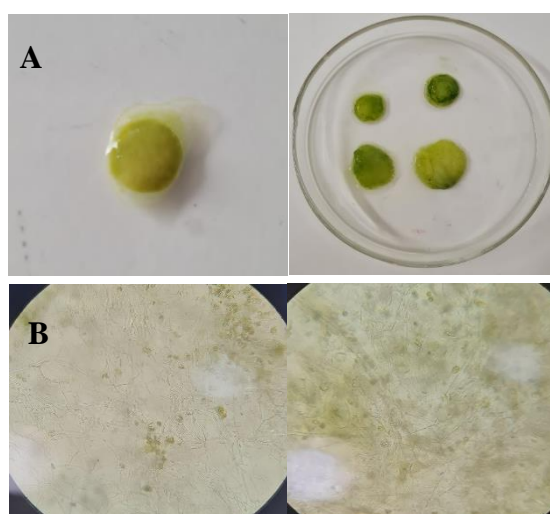
Essa etapa consistiu em avaliar o comportamento dos fungos filamentosos, utilizados nesse estudo, na remediação do soro do leite com o intuito de melhorar a eficiência do processo através do uso do microrganismo de melhor adaptação. Para isso, os fungos foram inoculados individualmente em todas as concentrações do soro do leite e permaneceram nesse sistema de tratamento durante 14 dias (336 h), sendo as amostras coletadas a cada 48 h.

#### 4.4.3 Etapa 3 – Biorremediação do soro do leite utilizando o consócio microalga- fungo em um reator coluna de bolhas e avaliação da intensidade luminosa.

Através do estudo realizado na etapa 2 (4.3.2) um fungo foi selecionado em razão da sua capacidade de remover os poluentes de maneira mais eficiente. Desta forma, essa sequência foi realizada utilizando o *Cunninghamella echinulata* e a microalga. Como a luminosidade é um dos fatores que afetam o desenvolvimento microalgal, nessa fase também foram avaliadas duas intensidades luminosas, 50 e 100  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (baseadas em experimentos com essa tipologia de microalga) (SILVA; SFORZA; BERTUCCO, 2018). Os biorreatores utilizados nesses ensaios operaram por um período de 7 dias (168h) e as amostras foram coletadas diariamente.

Os biopelletes formados pelo sistema de tratamento foram levados ao microscópio (Série Eco, K112L, KASVI/Motic) e a estrutura apresentada foi coerente com a ilustrada por Pei, Ren e Liu (2021), bem como a de Zhou et al. (2013), como é possível ver nas Figura 9.

**Figura 9** – Biopellets (A) formados durante o tratamento do soro do leite e sua visão microscópica de 40x (B).



Fonte: AUTORA (2021)

#### 4.4.4 Etapa 4 – Tratamento do soro do leite utilizando apenas contaminantes endógenos (controle).

Esse ensaio foi realizado com o intuito de avaliar o tratamento do soro do leite utilizando apenas os possíveis contaminantes naturais. Para isso o soro do leite, nas mesmas condições das demais etapas, foi colocado no biorreator e submetido a aeração, assim como em 4.4.2 e 4.4.3. Esse sistema ficou em operação por 7 dias (168 h), sendo as amostras foram coletadas diariamente.

### 4.5 Caracterização Físico-química

Os principais parâmetros utilizados na caracterização dos efluentes foram demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total e fósforo total. As amostras após serem coletadas passaram por centrifugação a 3500 rpm por 30 min (Centrifuga ACB Labor Dry-Bloch) para separar a fase sólida (lodo microbiano) da líquida, onde os contaminantes são medidos. Em seguida, principalmente para determinação da DQO, as amostras passaram em filtros de PES (polietersulfona) hidrofílico e de acetato celulose de 0,45 e 0,22  $\mu\text{m}$ , respectivamente; para eliminar eventuais sólidos que possam não ter sido eficientemente removidos na centrifugação e que afetam a análise.

#### 4.5.1 Peso seco celular

Para determinação do peso seco, utilizou-se os sólidos que foram separados na etapa de centrifugação. Eles foram transferidos para cápsulas previamente taradas em estufa a 60°C por 2h, ou até peso constante, em seguida resfriadas em dessecador por 15 minutos e pesadas.

Cálculo:

$$\text{Peso seco celular (PS)} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{N}{V} \cdot 10^6 \quad (1)$$

Onde:

N = massa do resíduo seco (massa da cápsula com o extrato seco menos a tara da cápsula) em g;

V = volume tomado da amostra, em mL.

#### 4.5.2 Demanda química de oxigênio – DQO (Método de digestão com dicromato)

Os tubos de ensaio foram lavados com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% (v/v) para eliminar interferentes de amostras anteriores. Foram adicionados aos tubos 2,5 mL da amostra previamente filtradas, 1,5 mL da solução de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio) e 3,5 mL do reagente de ácido sulfúrico (sulfato de prata diluído em ácido sulfúrico) (AOAC, 2002). Os tubos foram,

então agitados e colocados no bloco digestor a 150°C por 2 horas. Após o período de digestão, as amostras foram novamente agitadas, resfriadas e submetidas a leituras no espectrofotômetro a 600 nm, os valores obtidos são expressos em mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> de DQO (Shimadzu, UVmini 1240).

Para preparo da solução de digestão adicionou-se em 125 mL de água destilada 2,554 g de dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), previamente seco em estufa a 103°C por 2 horas, 41,75 mL de ácido sulfúrico e 8,325 g de HgSO<sub>4</sub>. Após dissolver e esfriar completou-se o volume em balão volumétrico de 250 mL com água destilada. No caso do reagente de ácido sulfúrico, foi adicionado 2,03 g de sulfato de prata (Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) em 200 mL de ácido sulfúrico concentrado. A dissolução completa do sulfato de prata demorou cerca de 24 horas. Por fim, para a solução padrão de Bifalato de potássio foi pesado 425,0 mg Bifalato de potássio, HOCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOK, previamente seco em estufa a 120°C por 2 horas, e o dissolveu em água destilada até o volume para 1000 mL em balão volumétrico. Esta solução é estável por até 3 meses quando guardada sob refrigeração. A relação teórica entre o bifalato de potássio e a DQO é de que 1 mg de bifalato de potássio corresponde a 1,171 mg O<sub>2</sub>.

Cálculo:

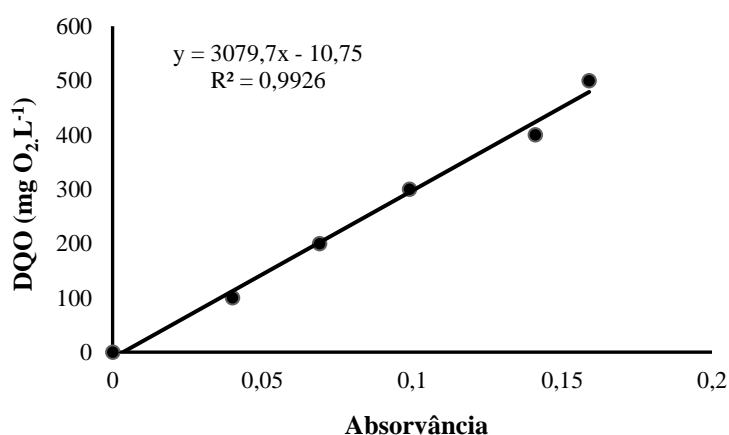
$$\text{Demanda Química de Oxigênio (DQO)} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) = 3079,7 * \text{Abs} * \text{Diluição} \quad (2)$$

Onde:

Abs = Valor da Absorbância obtida em espectrofotômetro;

Diluição = Diluição da amostra.

**Figura 10** - Curva padrão de DQO.



Fonte: AUTORA (2021).



#### 4.5.3 Nitrogênio Total (método de Kjeldahl)

O procedimento utilizado nesse estudo foi uma adaptação do Método de Kjeldahl para efluentes agroindustriais, e assim como a metodologia padrão dele consiste em um processo constituído por 3 etapas, digestão da amostra, destilação e titulação. A primeira etapa consiste na digestão da matéria orgânica e para isso foram adicionados 5 mL da amostra, 1g de mistura catalítica (sulfato de sódio, sulfato de cobre e dióxido de selênio na proporção 100:1:0,8) e 10 mL de ácido sulfúrico PA em tubos de Kjeldahl e em seguida aquecidos em bloco digestor (TECNAL, modelo TE007 MP), com a temperatura sendo elevada suavemente até atingir cerca de 310°C. O processo de digestão é finalizado quando as amostras apresentam coloração incolor ou levemente esverdeada (IAL, 2005).

Na segunda etapa ocorreu a destilação do nitrogênio. Nessa fase, utilizou-se os tubos nos quais a digestão foi realizada, e após os mesmos atingirem temperatura ambiente foram adicionadas, cuidadosamente, um pouco de água destilada e 2 gotas de fenolftaleína 1% sendo em seguida acoplados no destilador de nitrogênio (TECNAL, modelo TE-0363), foi inserido NaOH 40% até pH alcalino (mudança da coloração para rosa). Logo após foi iniciado o processo de aquecimento da amostra (início do processo de destilação), sendo o destilado coletado em um erlenmeyer de 250 mL, o qual continha 25 mL de ácido bórico 4%, 2 gotas do indicador vermelho de metila 0,25% e 2 gotas do indicador verde de bromocresol 0,2%. A destilação ocorreu até que fosse recolhido um volume de destilado de aproximadamente 100 mL. Por fim, a solução do erlenmeyer foi titulada com ácido clorídrico 0,001 N padronizado até o aparecimento da coloração rosada.

Cálculo:

$$\text{Nitrogênio Total ( } \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ )} = \frac{V_{\text{HCl}} * f_{\text{HCl}} * N_{\text{HCl}} * 14000}{V} \quad (3)$$

Onde:

$V_{\text{HCl}}$  = Volume gasto na titulação com ácido clorídrico;

$f$  = Fator de correção da solução de ácido clorídrico;

$N$  = Normalidade ácido clorídrico;

$V$  = Volume da amostra.

A solução de ácido clorídrico precisou ser padronizada. Para isso, foi colocado certa quantidade de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  PM=106) em estufa a 100°C por 1 hora, e em seguida levado para um dessecador para esfriar por 15 minutos. Foi pesado cerca de 0,25g de

bicarbonato isento de umidade, e o dissolveu em água isenta de CO<sub>2</sub> (previamente fervida), em seguida foi adicionado 2 gotas de alaranjado de metila e por fim, essa solução foi titulada com a solução de HCL até a primeira coloração.

Cálculo:

$$f = \frac{2 * m}{0,106 * V_{HCl} * N_{HCl}} \quad (4)$$

Onde:

$f$  = Fator de correção da solução de ácido clorídrico;

$m$  = massa do bicarbonato;

$V_{HCl}$  = Volume gasto na titulação com ácido clorídrico;

$N$  = Normalidade ácido clorídrico.

#### 4.5.4 Fósforo total (Método do ácido ascórbico)

Em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL da amostra previamente filtrada e 0,4 mL da solução desenvolvedora de cor, os tubos foram, então, tampados e foi esperado um período de 30 min, em seguida foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 706 nm (Shimadzu, UV-mini 1240).

Cálculo:

$$\text{Fósforo Total (FT) (PO}_4^{3-}) \left(\frac{mg}{L}\right) = 10,189 * Abs * Diluição \quad (5)$$

Onde:

Abs = Valor da Absorbância obtida em espectrofotômetro;

Diluição = Diluição da amostra.

Para a conversão em fósforo basta multiplicar pela relação entre as massas moleculares de fósforo e fosfato, de 31 e 95 g/mol, consistindo em um fator 31/95.

A solução desenvolvedora de cor foi formada pela fração das soluções dada a seguir e possui estabilidade de 4 horas.

A = 0,5; B=0,05; C=0,15; D=0,3.

Solução A: ácido sulfúrico 5 N;

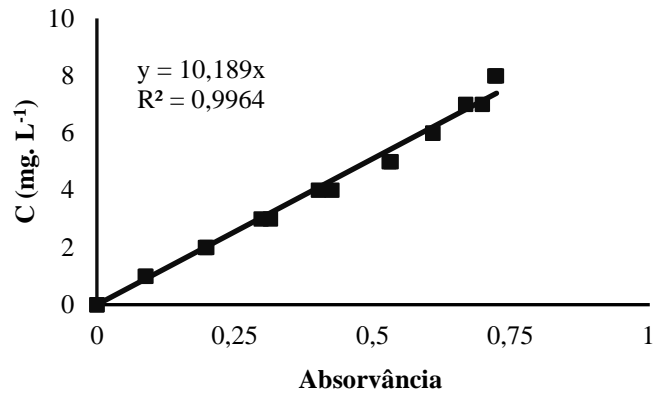
Solução B: tartarato misto de antimônio e potássio hemihidratato: 1,3715g de

K(SbO)C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>.1/2H<sub>2</sub>O para 500 mL de água;

Solução C: mobilidato de amônio: 20 g de (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4.H<sub>2</sub>O em 500mL de água;

Solução D: ácido ascórbico 0,01M, 0,44 g para 100 mL de água.

**Figura 11** - Curva padrão de Fosfato total.



Fonte: AUTORA (2021).

#### 4.5.5 Determinação do pH

Para a determinação de pH foi transferido uma alíquota da amostra para um Becker, e levado ao pHmetro previamente aferido (tampões pH 4,0 e pH 7,0), operando-o de acordo com as instruções do manual do fabricante (TECNAL).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção os resultados obtidos são discutidos de forma temporal. Desta forma, primeiro será apresentado a caracterização do soro do leite, efluente agroindustrial utilizado durante todo o desenvolvimento da pesquisa, e em seguida os testes iniciais, os quais deram embasamento para o segmento desse estudo, justificando a teoria usada para o desenvolvimento do mesmo.

### 5.1 Caracterização do Soro do Leite

O soro do leite é um subproduto da indústria de alimentos caracterizado por possuir uma alta carga de poluentes. A Tabela 9 apresenta os dados obtidos a partir da caracterização do soro do leite coletado para ser utilizado como efluente remediado nessa pesquisa.

**Tabela 9** – Caracterização físico-química do soro do leite.

Parâmetro	Soro do Leite
DQO (mg O <sub>2</sub> . L <sup>-1</sup> )	52.886,90 ± 269,25
Nitrogênio Total (mg N. L <sup>-1</sup> )	1.563,82 ± 35,00
Fosfato (mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> . L <sup>-1</sup> )	663,50 ± 12 (ou 216,51 ± 4, em termos de fósforo total)
pH	6,33

Fonte: AUTORA (2021)

Essas quantidades elevadas são coerentes com as encontradas em inúmeros estudos presentes na literatura. Como exemplo, tem-se a caracterização realizada por Saddoud, Hassaïri e Sayasdi (2007) em um soro do leite cru que possui concentrações de  $68.600 \pm 3300 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $1.120 \pm 10 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $500 \pm 1,8 \text{ mg.L}^{-1}$ , para DQO, NT e PT. As possíveis variações dos números estão relacionadas a fonte animal do leite, ao modo com que o processo de obtenção dos produtos é realizado, bem como as condições oferecidas pelo ambiente industrial.

### 5.2 Avaliação dos Monossistemas e do Sistema Microalga-Fungo na Remoção dos Poluentes Encontrados no Soro do Leite

Nessa etapa foram avaliados a eficiência para os três sistemas de tratamento (microalga, fungo e o consórcio) assim como descrito na seção 4.4.1. Os mesmos parâmetros para quantificar a carga poluidora foram analisados em todos os casos (DQO, FT, NT).

### 5.2.1 Remoção da demanda química de oxigênio (DQO)

A Figura 12 expõe os dados de remoção de DQO (cujos valores iniciais são: 281 mg.L<sup>-1</sup> para 0,5%; 524 mg.L<sup>-1</sup> para 1%; 1200 mg.L<sup>-1</sup> para 2% e 2276 mg.L<sup>-1</sup> para 4%) obtidos utilizando os três diferentes sistemas de biorremediação (fungo, microalga e o consórcio). A partir da análise deles é notável perceber que, na maioria dos casos, o consórcio microalga-fungo possui uma eficiência superior quando comparado aos demais.

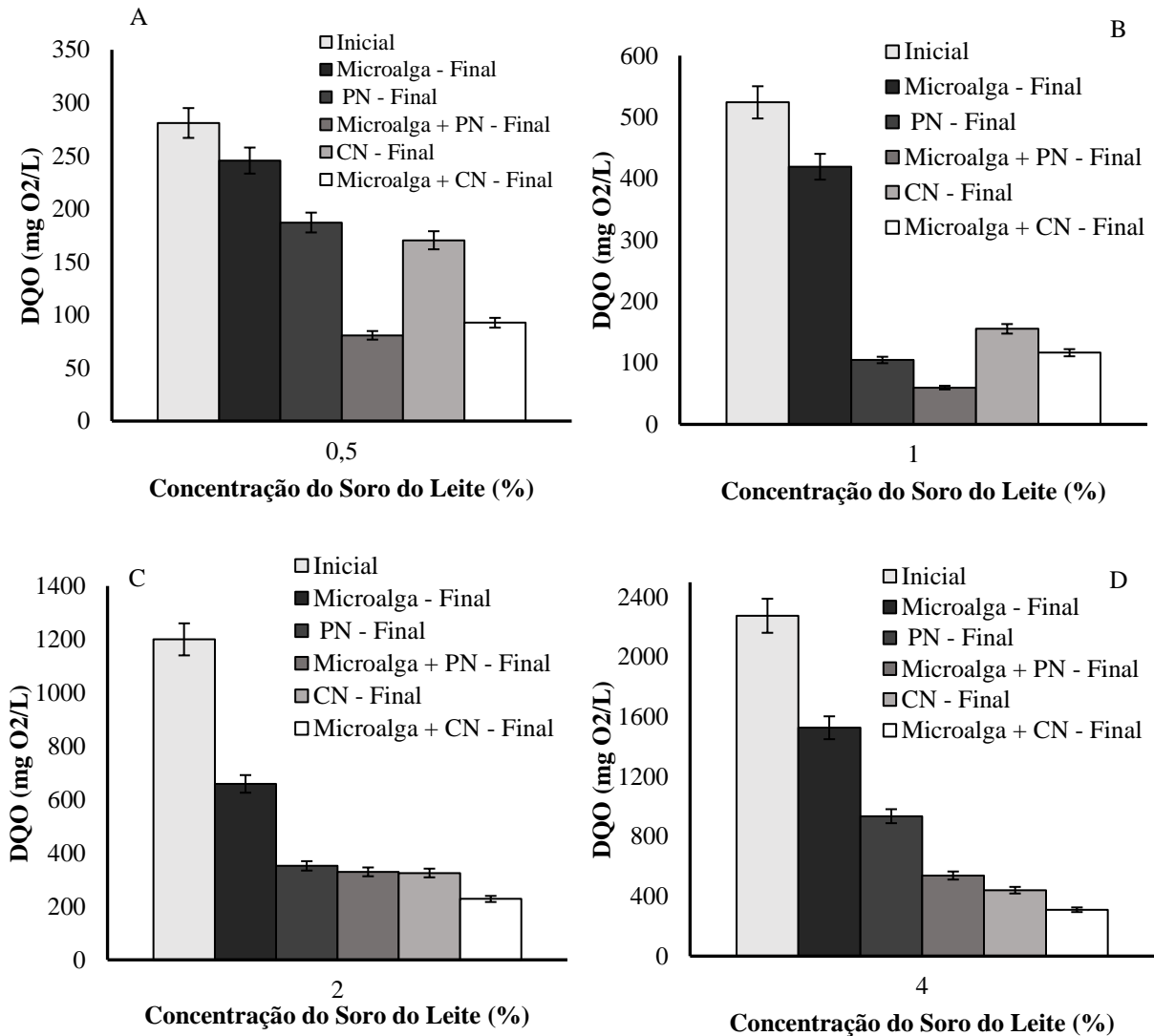
A remediação promovida pelo monossistema formado apenas pela microalga alcançou uma remoção de DQO (0,5%: 245,56 mg.L<sup>-1</sup>; 1% 419,24 mg.L<sup>-1</sup>; 2% 658,81 mg.L<sup>-1</sup>; 4%: 1.527,25 mg.L<sup>-1</sup>) muito menor do que a realizada pelo fungo ou pelo consórcio utilizado, para todas as concentrações de soro do leite. Esse resultado é esperado, visto que elas possuem certa dificuldade em assimilar os nutrientes encontrados nas macromoléculas.

No caso dos fungos, a DQO residual apresentou valores de remoção diferentes para cada gênero de fungo utilizado. Para o fungo *Cunninghamella* (CN) no meio com 4% do soro do leite, por exemplo, a DQO residual foi de 441,04 mg.L<sup>-1</sup>, enquanto para o *Penicillium* (PN) foi de 935,81 mg.L<sup>-1</sup>. Essa diferença está diretamente condicionada as variações metabólicas de cada microrganismo, assim como a sua adaptação ao meio.

Em se tratando da simbiose, a mesma mostrou uma maior eficiência na maioria dos casos. De modo que para o efluente formado por 4% do soro do leite a DQO residual foi de 310,22 mg.L<sup>-1</sup> para o consórcio microalga-CN e de 539 mg.L<sup>-1</sup> para o consórcio microalga-PN. Essa maior remoção está relacionada ao comportamento sinérgico entre esses dois microrganismos que permite um maior crescimento da biomassa dos mesmos tornando o sistema de tratamento mais efetivo.

Essa tendência já foi citada por alguns autores como em Yang, Li e Wang (2019) que conseguiram alcançar uma redução do teor de DQO de 11.230 mg.L<sup>-1</sup> para 3.291,5 mg.L<sup>-1</sup> utilizando o consórcio formado entre o fungo do gênero *Aspergillus sp.* e a microalga *Chlorella sp.*, no quais de maneira individual obtiveram valores para DQO residual de 8.314,70 mg.L<sup>-1</sup> e 4.604,30 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. O mesmo foi relatado por Srinuanpan et al. (2018) que conseguiu reduzir para 37,44 a DQO inicial (144 mg/L) presente no efluente da indústria de frutos do mar utilizando o consórcio entre o fungo *Trichoderma reesi* e *Scenedesmus sp.*

**Figura 12**– Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) e o consórcio entre eles na remoção de DQO presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



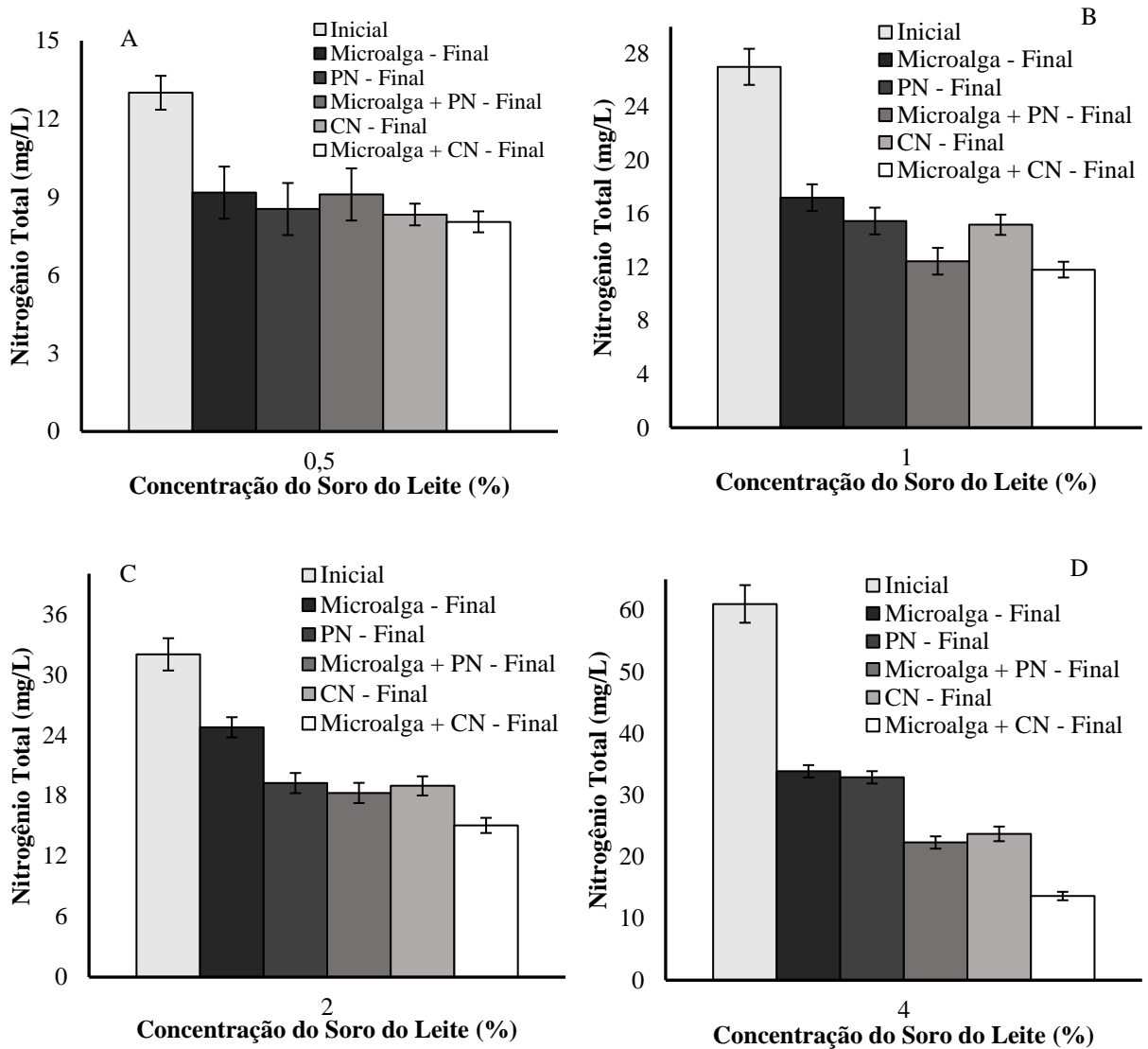
Fonte: AUTORA (2021)

### 5.2.2 Remoção de demais nutrientes (Nitrogênio total e Fosfato total)

No caso do nitrogênio (Figura 13), as microalgas e os fungos, de forma individual, apresentaram percentuais de consumo que variaram de 14 a 60%, enquanto o consórcio possibilitou uma remoção de até 77,7%. Essa diferença nos perfis de tratamento fica bem clara quando analisa-se a concentração residual de nitrogênio no meio que contém 4% do soro do leite para os sistemas que utilizam microalga (MC), o fungo CN e o consórcio MC-CN cujos valores são 33,87 mg.L<sup>-1</sup>, 23,72 mg.L<sup>-1</sup> e 13,64 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Essa tendência no

tratamento está diretamente condicionada a capacidade dos fungos de promover a quebra das macromoléculas dos poluentes em moléculas menores, solúveis e que são de fácil assimilação pelas microalgas aumentando a remoção de nutrientes orgânicos e inorgânicos, como nitrogênio e fósforo.

**Figura 13**– Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) e o consórcio entre eles na remoção de NT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).

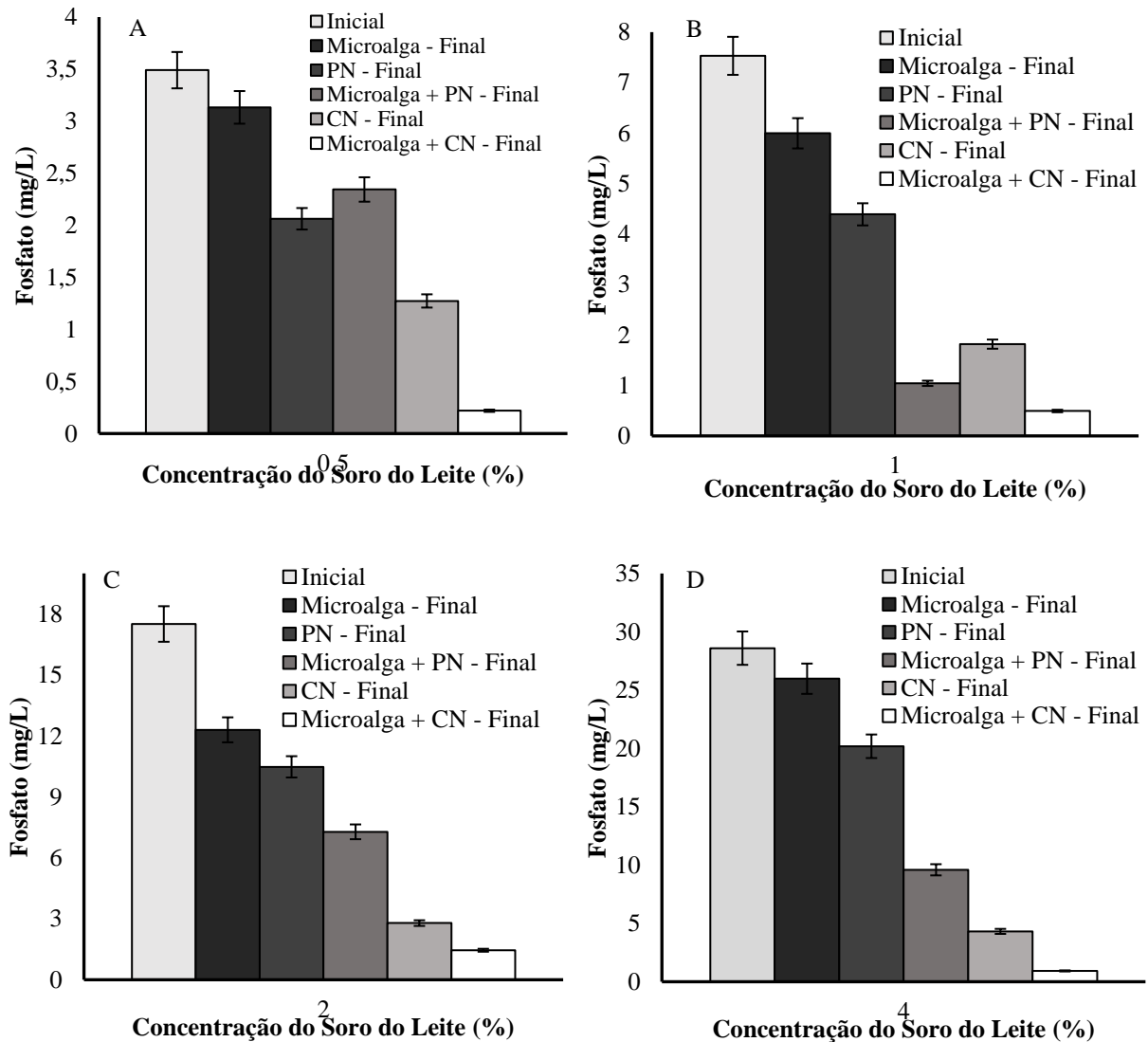


Fonte: AUTORA (2021)

Quanto ao fosfato (Figura 14), a simbiose com o fungo *Penicillium oxalicum* alcançou teores de remoção muito próximos ao fungo quando foi utilizado 0,5% do soro do leite, entretanto para as demais concentrações a retirada do fosfato total foi maior do que a proporcionada pelo monossistemas, atingindo percentuais de até 83%. No caso dos sistemas formados pela junção da microalga e com o fungo *Cunninghamella* a remoção de fosfato foi

significativamente superior aos monossistemas e ao outro consórcio estudado, conseguindo percentuais de tratamento que variaram entre 92 e 96%.

**Figura 14**– Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) e o consórcio entre eles na remoção de FT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



Fonte: AUTORA (2021)

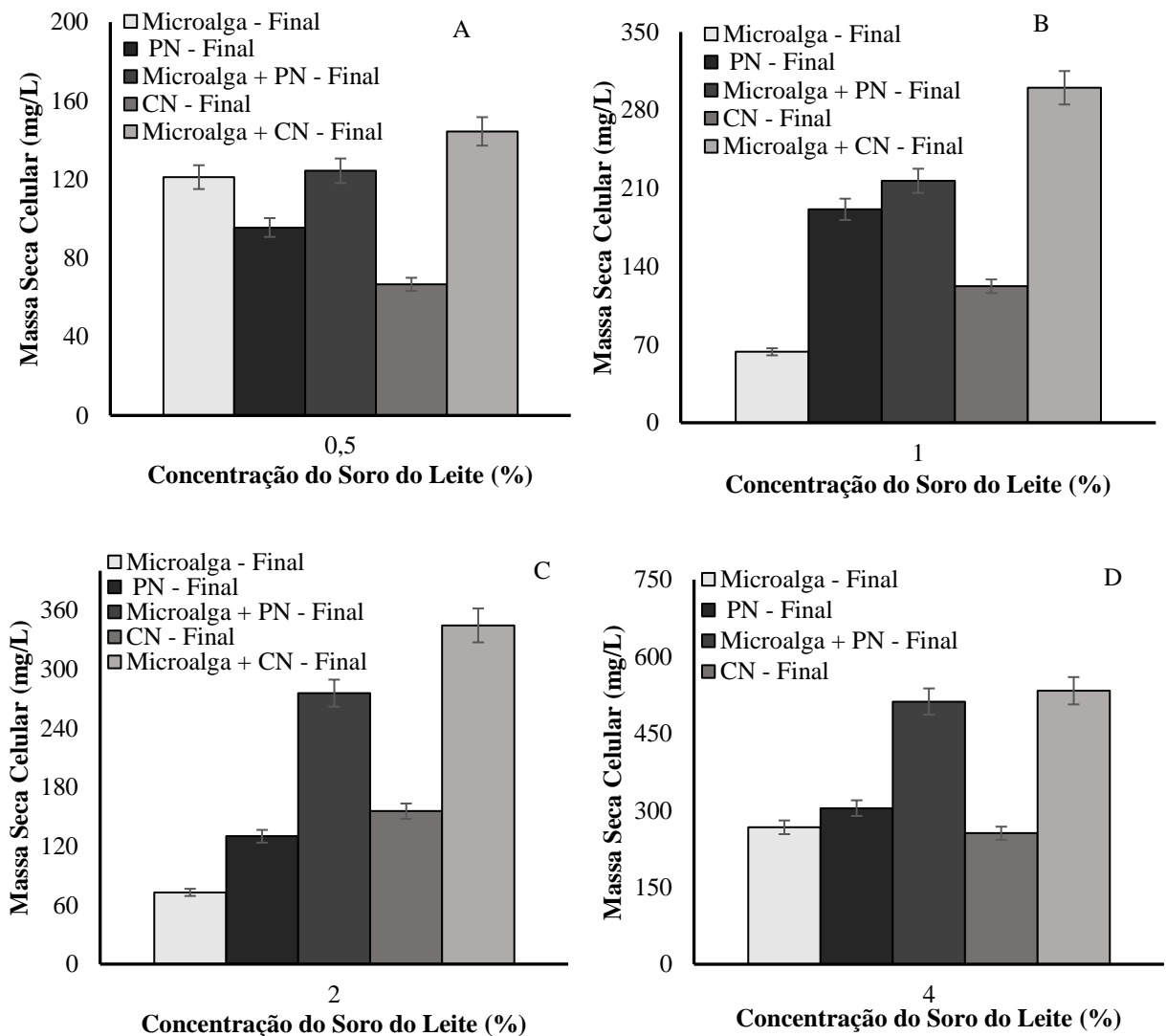
Da mesma forma, estudos que utilizaram o consórcio microalga- fungo, com espécies diferentes das apresentadas nesse trabalho, alcançaram uma redução do teor inicial de nitrogênio e fósforo (NT: 407,5 mg.L<sup>-1</sup> ; PT: 30,4 mg.L<sup>-1</sup>) para 134,11 mg.L<sup>-1</sup> e 3,35 mg.L<sup>-1</sup> , respectivamente. Esses valores foram menores do que os proporcionamos pelo tratamento com os monossistemas, nos quais o fungo atingiu 333,34 mg.L<sup>-1</sup> para NT e 17,50 mg.L<sup>-1</sup> para PT, enquanto o uso da microalga resultou em 226,61 mg.L<sup>-1</sup> de NT e 22,50 mg.L<sup>-1</sup> de PT (YANG; LI; WANG, 2019).



### 5.2.3 Produção de biomassa microbiana

A produção de biomassa (Figura 15) pelo consórcio microalga-fungo mostrou uma relação direta com o aumento da concentração de efluente no meio, de modo que os valores obtidos no meio 4% foram cerca de 5 vezes maiores do que o de 0,5%, como exemplo tem-se a produção de biomassa para a simbiose formada com o fungo CN no qual a concentração da mesma foi de 144,44 mg.L<sup>-1</sup> para o meio de 0,5% e 533,33 mg.L<sup>-1</sup> no meio com 4% do soro do leite. Esse fato está relacionado com a maior disponibilidade de nutrientes no meio, permitindo assim, um maior desenvolvimento para ambos os microrganismos.

**Figura 15** – Biomassa gerada pelos sistemas microalga, fungo e o consórcio entre eles nas diferentes concentrações de soro de leite.



Fonte: AUTORA (2021)

Com relação aos monossistemas, para todas as concentrações de efluente, a biomassa obtida foi muito menor do que a promovida pela simbiose, como exemplo tem-se o meio de 4% no qual a biomassa microalgal foi de  $270 \text{ mg.L}^{-1}$ , a do *Penicillium*  $300 \text{ mg.L}^{-1}$ , e a união dos dois  $512 \text{ mg.L}^{-1}$ . Ademais, o consórcio formado com o *Cunninghamella* promoveu um crescimento da biomassa superior do que quando foi utilizado o PN, em todas as concentrações de soro do leite.

A maior produção de biomassa microbiana pelo consórcio ocorre em razão da relação positiva que há entre ambos os microrganismos, de modo que as hifas fúngicas fornecem  $\text{CO}_2$  que será utilizado pela microalga em seu processo de fotossíntese enquanto o mesmo promove a liberação de  $\text{O}_2$ , o qual é utilizado para o crescimento do fungo e desta forma, ambas as biomassas se desenvolvem plenamente.

#### 5.2.4 pH

Um dos principais parâmetros que afetam um bioprocessos é o pH do meio e a variação do mesmo provocada pelos microrganismos podem afetar negativamente a condução do processo. A Figura 16 exemplifica o comportamento do pH para os três sistemas de tratamento apresentados nessa etapa.

De forma específica, quando se utiliza a microalga na remediação de efluentes o crescimento da mesma promove a alcalinização no meio. Entretanto quando há contaminação por bactérias, elas agem promovendo a redução do pH e fazendo com que o mesmo se torne ácido. Partindo do princípio de que a microalga se desenvolve efetivamente em um pH que tenda ao alcalino, essa situação faz com que o sistema necessite de um ajuste de pH quase que diário. Essa tendência foi percebida durante o desenvolvimento dessa pesquisa em que o pH do monossistema formado pela microalga, inicialmente em 8,5, foi mensurado diariamente e demonstrou variações entre 6 e 7 nos primeiros 4 dias de tratamento, necessitando de um controle com adição de hidróxido de sódio (2N) para mantê-lo dentro dos parâmetros que permitiam o melhor crescimento dessa biomassa. Ao fim do processo o pH do meio se mostrou alcalino (próximo a 10), o que denota um crescimento efetivo da microalga.

No caso da utilização do fungo filamentosos como remediador em sistemas de tratamento é relatado na literatura que ele promove a liberação de ácidos orgânicos no meio tornando-o ácido. Essa situação também foi comprovada de maneira que o pH mensurado no monossistema para ambos os fungos estudados foi reduzido de 7,5 para 5,5 durante o período de remediação

do soro do leite. Neste caso, não houve a necessidade de ajuste de pH em razão da capacidade desses microrganismos em se adaptar as variações do meio.

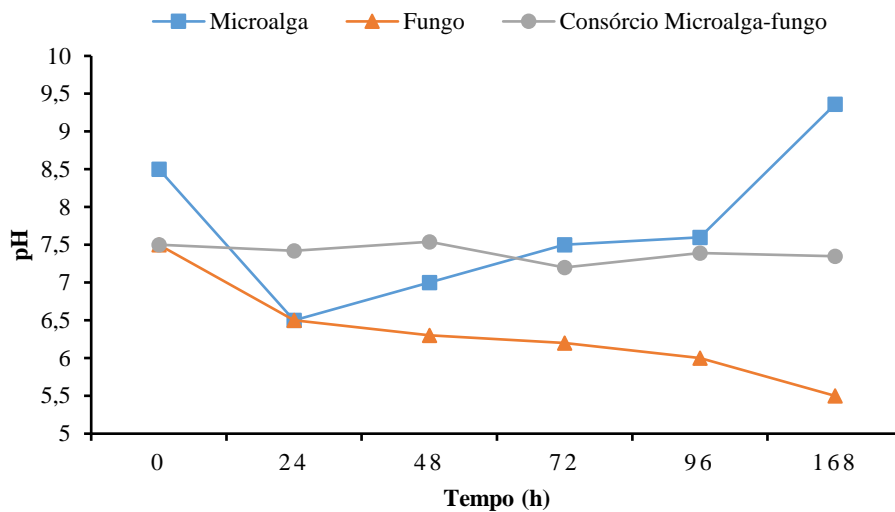
Portanto é possível perceber que a promoção da redução da carga poluidora para ambos os casos promove a alcalinização ou acidificação do meio, gerando uma problemática com relação a não adequação desse efluente com relação ao pH ao que se refere ao descarte em corpos d'água. No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) na resolução nº 430 de 2011, traz os padrões de lançamento de efluente em corpos d'água e para pH o mesmo determina que esse parâmetro deve estar entre 5 e 9.

Nesse sentido, a utilização do consócio microalga-fungo proporciona mais uma vantagem ao sistema de maneira que foi percebido que ao utilizar essa configuração o pH do meio, que inicialmente estava em 7,5, permaneceu sem grandes variações se mantendo dentro do intervalo de 7,2 a 7,6, não necessitando nenhum controle durante o período de tratamento e permitindo que o efluente final se adeque aos padrões de lançamento.

Essa estabilização do pH ocorre em razão do consumo parcial dos ácidos orgânicos, liberados pelos fungos, pelas microalgas e o restante desses ácidos previnem a alcalinização do meio que é promovida pelo crescimento da biomassa microalgal, solucionando o problema proporcionado pela flutuação do pH (LIN et al., 2022).

Essa condição proporcionada pelo consócio desses microrganismos também foi percebida por Yang, Li e Wang (2019) que relataram em seu artigo a acidificação do meio ao utilizar apenas o fungo, a alcalinização do meio ao fazer uso somente da microalga e a estabilização do pH quando utilizado a simbiose no processo de remediação.

**Figura 16-** Comportamento do pH do meio na remediação utilizando a microalga, o fungo e o consórcio entre eles.



Fonte: AUTORA (2021)

### 5.3 Avaliação dos Fungos *Penicillium oxalicum* e *Cunninghamella echinulata* no Tratamento do Soro do Leite Utilizando Reator Coluna de Bolhas

Essa etapa foi desenvolvida com o intuito de compreender o tratamento do soro do leite utilizando o fungo filamentososo, bem como avaliar a eficiência de ambos de modo a selecionar o de melhor desempenho para ser utilizado nas etapas posteriores, assim como descrito na seção 4.1.2.

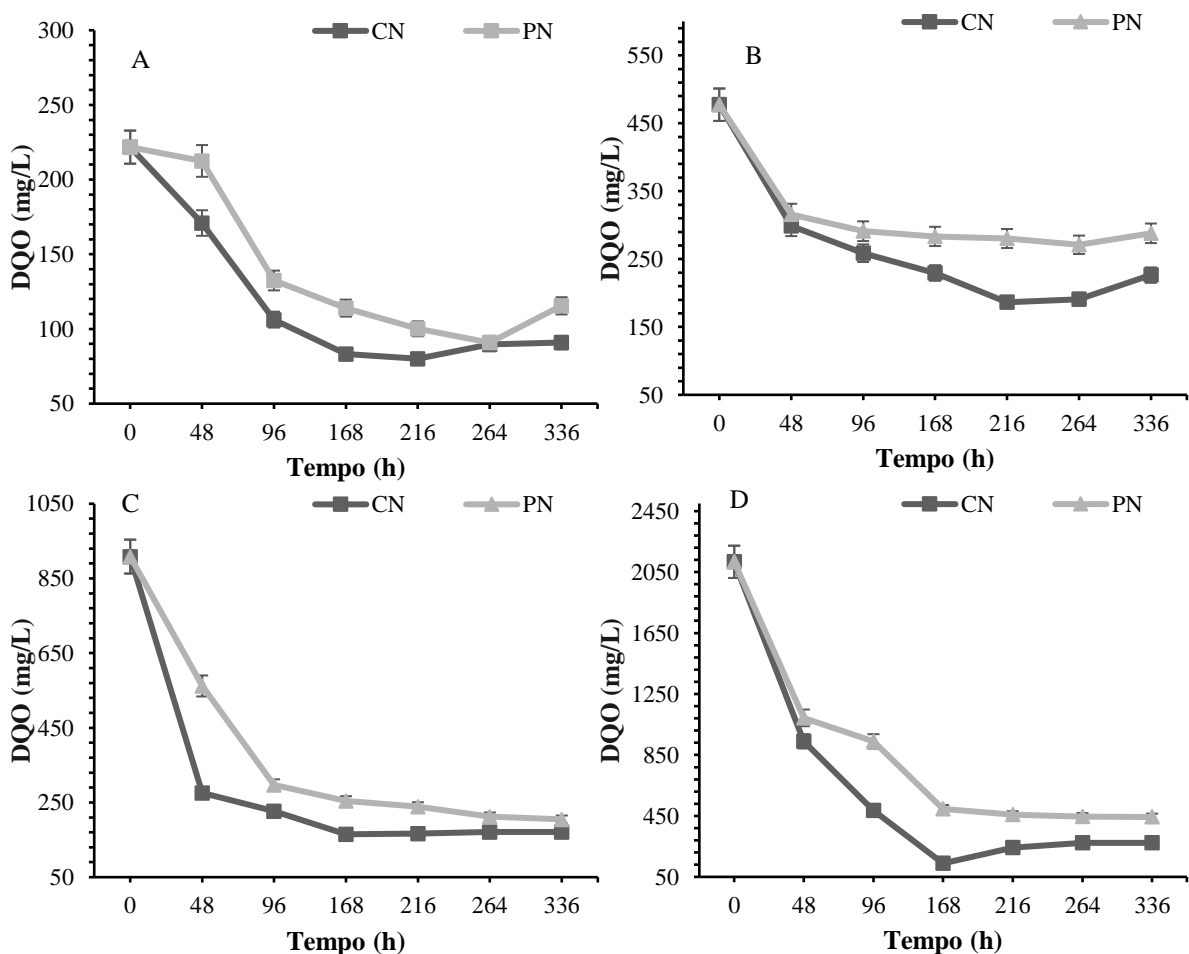
#### 5.3.1 Remoção de DQO

Em razão do fungo ser um microrganismo heterotrófico o consumo de carbono orgânico, bem como outros elementos orgânicos, são de suma importância para o seu crescimento e o desenvolvimento das suas funções metabólicas. Entretanto, a taxa com que esses componentes são consumidos por cada espécie de fungo dependerá da sua adaptação ao meio (tipo de reator e efluente) assim como das características presentes no seu metabolismo (SANKARAN et al., 2010). Com a Figura 17, é possível perceber que de acordo com a tendência mostrada pelas curvas o fungo CN consegue metabolizar a carga orgânica presente em todas as concentrações do soro do leite de uma forma mais eficiente do que o fungo PN, tanto com relação a capacidade de remoção quanto a velocidade de consumo.

Um dos fatores que podem influenciar a capacidade do fungo em promover a remediação do meio é a sua habilidade em se adaptar ao reator usado. Cerrone et al. (2011), avaliou essa influência utilizando os fungos *Funalia trogii* e *Trametes versicolor* no tratamento

de águas residuais de lavagem de azeitona ( DQO: 2503 mg.L<sup>-1</sup>) usando frascos agitados (180 rpm; conf. 1) e um reator coluna de bolhas ( conf. 2) durante um tempo de retenção hidráulica de 216 h. Foi percebido que o fungo *Funalia trogii* apresentou uma melhor adaptação quando utilizado a conf. 1, isso foi notado através dos percentuais de remoção que nesse caso foram de 64% para DQO, enquanto na conf. 2 foi obtido 42%. No caso do fungo *Trametes versicolor* o tratamento foi potencializado com a adição do oxigênio proporcionada pela mudança de reator saindo de uma remoção de DQO de 76% (conf. 1) para 84% na conf. 2. Tendo em vista a necessidade de otimizar o sistema de remediação para esse efluente, em razão da sua alta taxa volumétrica, e baseado nos dados de DQO é possível afirmar que o fungo CN possui uma maior capacidade de tratamento em um período de retenção menor do que o PN exigiria para alcançar um percentual semelhante de remoção para esse poluente.

**Figura 17**– Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) na remoção de DQO presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).

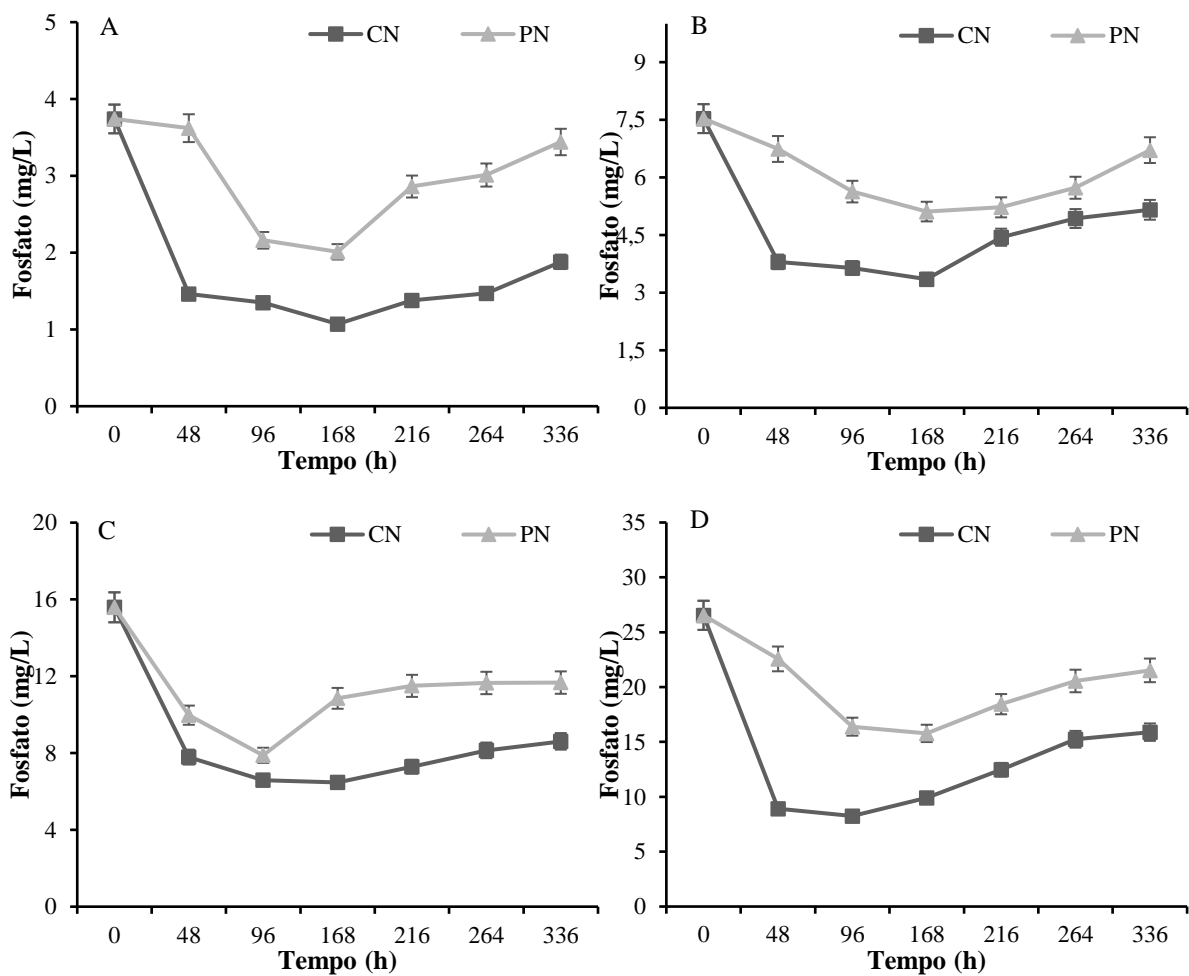


Fonte: AUTORA (2021)

### 5.3.2 Remoção de FT e NT

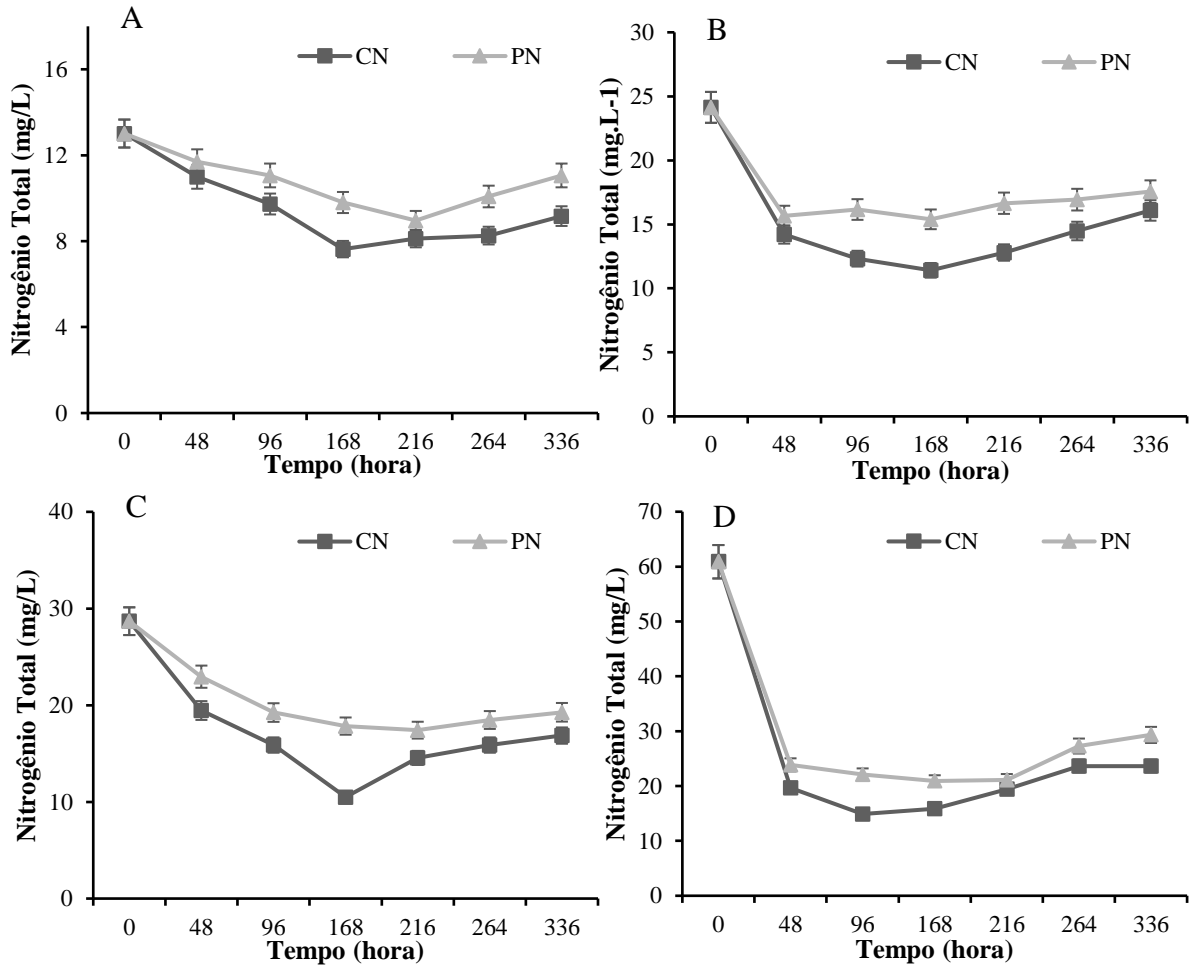
Assim como para DQO, o fungo CN demonstrou uma maior eficiência na remoção de NT e FT quando comparado ao fungo PN, esse comportamento fica evidente analisando os gráficos encontrados nas Figuras 18 e 19.

**Figura 18**– Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) na remoção de FT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



Fonte: AUTORA (2021)

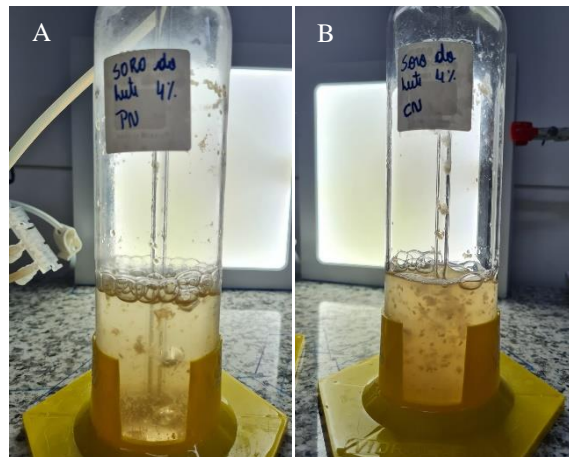
**Figura 19**– Desempenho da remediação realizada pelo fungo *Penicillium oxalicum* (PN) e *Cunninghamella echinulata* (CN) na remoção de NT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



Fonte: AUTORA (2021)

Ainda, é possível vislumbrar esse potencial de tratamento apresentado pelo fungo CN pela sua capacidade de maior produção de biomassa quando comparado ao fungo PN durante o mesmo período de retenção hidráulica, como é possível ver na Figura 20. Essa circunstância é relevante visto que, o processo de remediação realizado pelo fungo envolve etapas que utilizam essencialmente o seu metabolismo (bioacumulação), e outras não (biossorção) (SANKARAN et al., 2010).

**Figura 20**– Biomassa produzida pelo fungo *Penicillium oxalicum* (A) e *Cunninghamella echinulata* (B) na remediação do efluente com 4% soro do leite em um período de retenção hidráulica de 11 dias (264h).



Fonte: AUTORA (2021)

Desta forma, pelos resultados obtidos durante o desenvolvimento desse ensaio é possível afirmar que o fungo CN possui uma capacidade de remediação maior do que a apresentada pelo PN, visto que além das concentrações residuais dos poluentes serem menores ao utiliza-lo, o tempo de retenção hidráulica também pode ser reduzido pois, na maioria dos casos, o tratamento atinge o seu ápice próximo a 168 h. Em razão disso, o uso do CN na formação do consócio possibilitará uma otimização no processo de tratamento do soro do leite realizado nas etapas seguintes.

#### **5.4 Biorremediação do Soro do Leite Utilizando o Consócio Microalga- Fungo em um Reator Coluna de Bolhas e Avaliação da Intensidade Luminosa**

Essa etapa foi desenvolvida com o intuito de promover a remediação do soro do leite em um reator coluna de bolhas utilizando o consócio microalga- fungo como remediador, assim como avaliar a influência da intensidade luminosa na eficiência do tratamento. Além disso, a remoção dos poluentes promovida por esse sistema será comparada com a obtida a partir dos contaminantes naturais presentes no meio, através da análise do sistema de controle.

##### **5.4.1 Remoção de DQO**

A Figura 21 apresenta as curvas de remoção de DQO, nas quatro concentrações do soro do leite, para o sistema de tratamento utilizando o consócio, nas intensidades luminosas de 50



$\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (L50) e  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (L100), e apenas os microrganismos endógenos (controle). Comparando a remediação para as diferenças intensidades luminosas é possível perceber quando se utilizou a iluminação de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  atingiu-se valores de DQO residual menores (0,5%:118,56  $\text{mg.L}^{-1}$ ; 1%: 150,90  $\text{mg.L}^{-1}$ ; 2%: 138,56  $\text{mg.L}^{-1}$ ; 4%:144,75  $\text{mg.L}^{-1}$ ) no que ao utilizar a de  $50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (0,5%:138,59  $\text{mg.L}^{-1}$ ; 1%: 277,17  $\text{mg.L}^{-1}$ ; 2%: 214,04  $\text{mg.L}^{-1}$ ; 4%: 394,20  $\text{mg.L}^{-1}$ ). Percebe-se, também, que à medida que a concentração do soro do leite aumenta a diferença na remoção da DQO por esses sistemas se torna mais evidente, fato diretamente relacionado a maior disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento de ambas as biomassas.

Analisando os dados obtidos para a concentração de soro do leite de 4% em que a concentração inicial de DQO foi de  $1663 \text{mg.L}^{-1}$  ao utilizar a intensidade luminosa de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  de forma contínua durante 7 dias o percentual de remoção desse poluente (91%) foi superior ao apresentado por Gao et al. (2018), o qual fez uso de uma intensidade luminosa de  $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  em um ciclo L/D (12h:12h) proporcionando que o consórcio formado pela microalga *Chlorella vulgaris* e pelo fungo *Ganoderma lucidum* removesse 77,62% da DQO presente no efluente de suinocultura ( $1200 \text{mg.L}^{-1}$  de DQO inicial) em 10 dias de retenção hidráulica.

Segundo a literatura, para intensidades luminosas baixas a microalga pode ser exposta a situações de fotolimitação e assim o crescimento logarítmico da mesma não prevalece. Desta forma, o aumento da intensidade luminosa promove uma potencial melhora nas taxas de crescimento dessa biomassa. Esse comportamento também foi identificado por Wahidin, Idris, Shaleh (2013) o qual relatou que ao dispor de uma intensidade luminosa de  $50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  a taxa de crescimento específica ( $0,299 \text{d}^{-1}$ ) foi menor do que a alcançada para uma luminosidade de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ( $0,308 \text{d}^{-1}$ ), ainda os autores mostraram que altas intensidades luminosas, como  $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , podem causar problemas de fotoinibição, o que proporciona um crescimento limitado associado a morte celular (GAO et al., 2021).

Essa relação da intensidade luminosa com o crescimento das microalgas é de extrema importância no quesito remoção de poluentes. Isso porque, a assimilação desses compostos por esse microrganismo está diretamente associado as suas funções metabólicas, desta forma, um maior crescimento da biomassa promove, conseqüentemente, uma maior redução na carga poluidora. Desta forma, maiores taxas de remoção estão associadas a maior intensidade luminosa, pois o requerimento energético e estrutural de grupos fosfatos (NADPH, ATP, Ácidos nucleicos etc.) são necessários para um maior crescimento e maior fotossíntese

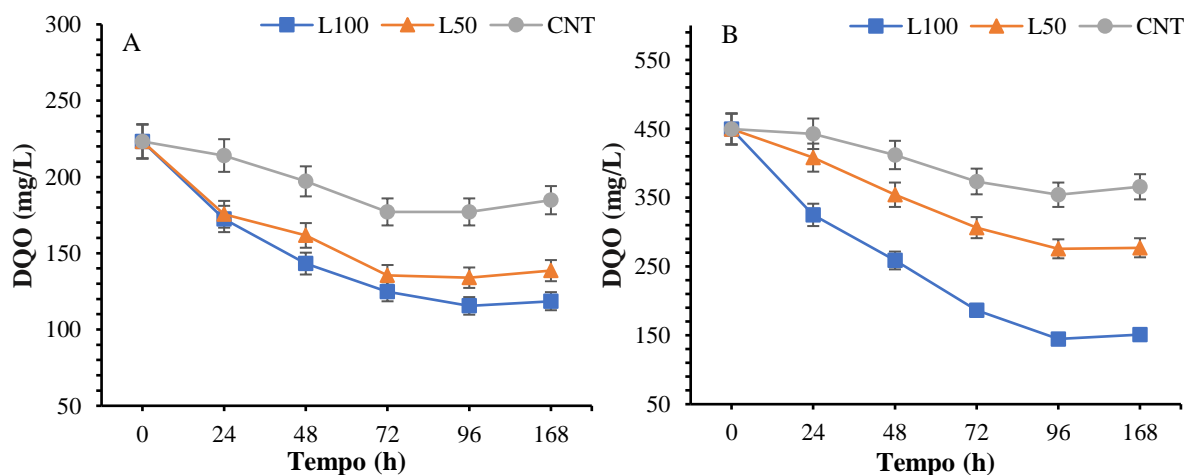
realizada. Nesse sentido, algumas análises mostram que o aumento desse parâmetro pode reduzir a absorção de fósforo pelas microalgas, entretanto eleva a assimilação de outros compostos como DQO e nitrogênio (SILVA; SFORZA, 2016; MORONE et al., 2019).

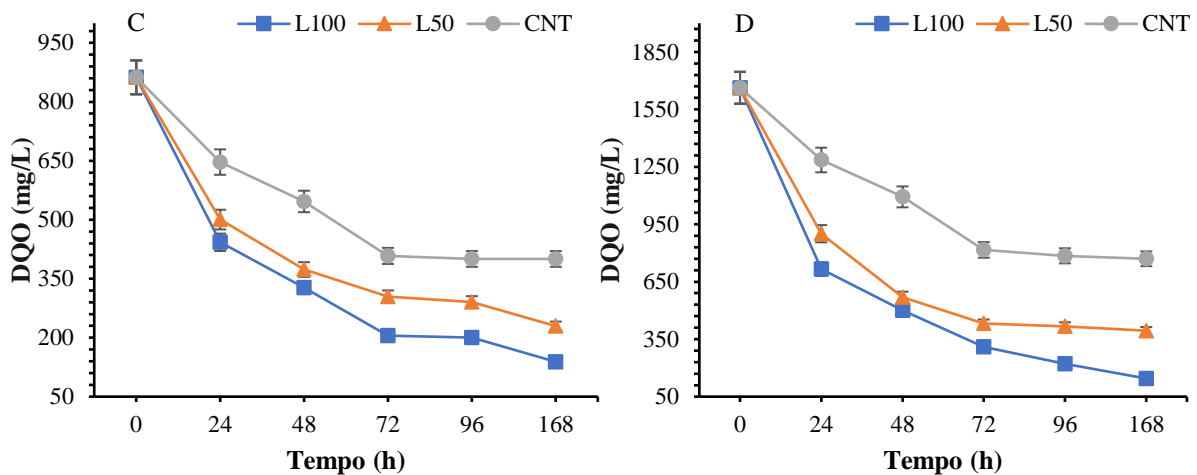
É importante levar em conta, também, que o maior crescimento da microalga contribui para a relação sinérgica que a mesma desenvolve com o fungo, pois além de liberar maiores concentrações de  $O_2$  no meio ainda, em casos de redução na disponibilidade de compostos orgânicos, o fungo consegue utilizar os componentes da sua parede celular como fonte de nutriente.

Além do mais, ambos os sistemas de tratamento que continham o consórcio alcançaram valores de DQO residual inferiores aos obtidos durante o desenvolvimento do controle (0,5%: 184,78  $mg.L^{-1}$ ; 1%: 365,71  $mg.L^{-1}$ ; 2%: 400,36  $mg.L^{-1}$ ; 4%: 769,93  $mg.L^{-1}$ ). Isso mostra que a decomposição natural desse efluente não é tão eficiente quanto a obtida utilizando microrganismos específicos para isso e em condições adequadas para o tratamento.

É relevante ressaltar que o uso do reator coluna de bolhas traz benefícios ao sistema de tratamento, visto a adição de ar não só potencializa o crescimento do fungo, por ser um microrganismo aeróbio, e da microalga pelo fornecimento de  $CO_2$ , como também promove uma agitação no meio o que permite a formação dos biopelletes e ainda a turbulência formada melhora a transferência de massa, pois possibilita que os microrganismos consigam interagir com todo o volume do meio de forma uniforme (SANKARAN et al., 2010; ESPINOZA-ORTIZ et al., 2016).

**Figura 21**– Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga- fungo e pelos contaminantes naturais (CNT) na remoção de DQO presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).





Fonte: AUTORA (2022)

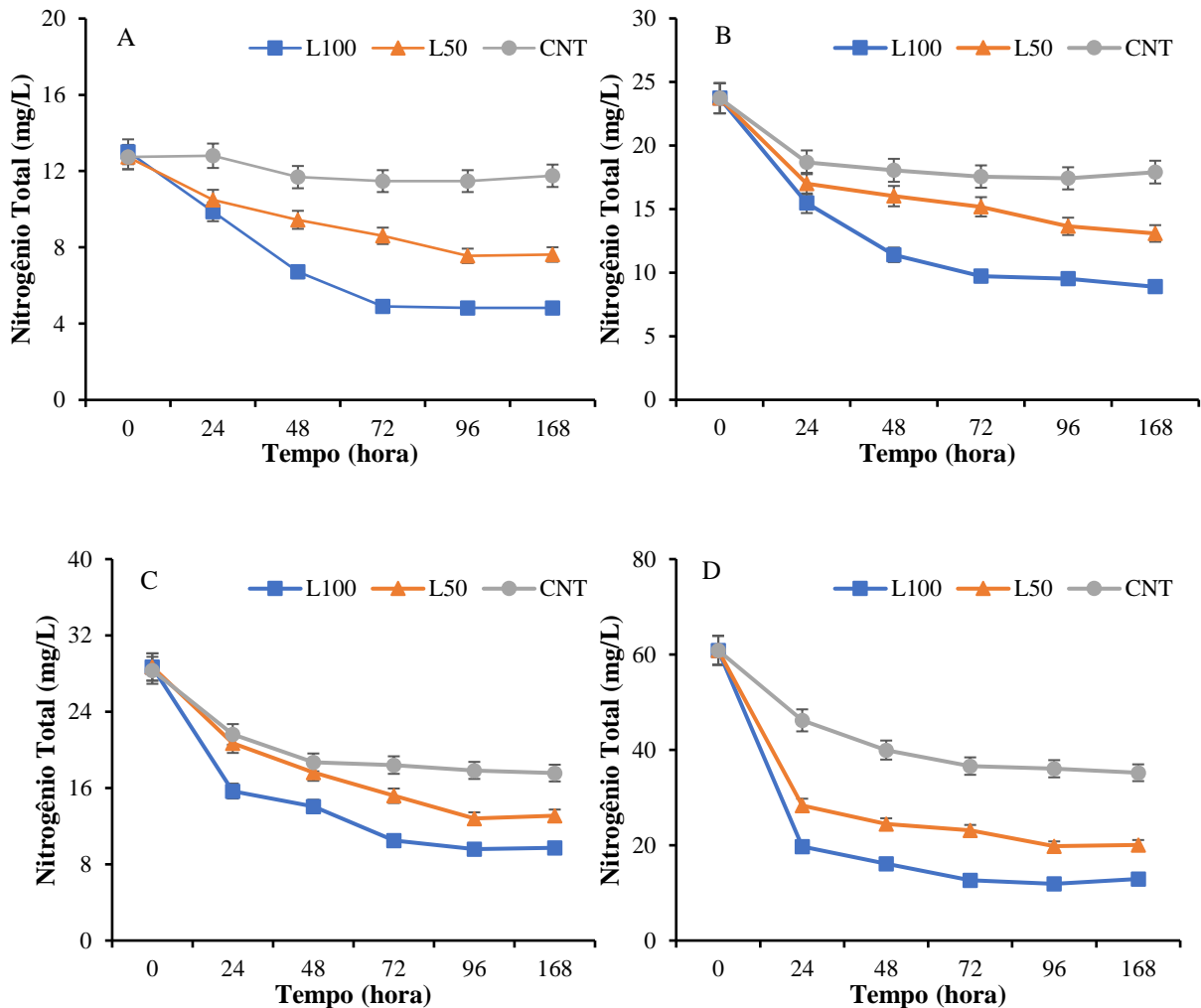
#### 5.4.2 Remoção de NT e FT

As Figuras 22 e 23 trazem as curvas de remoção de NT e FT para as concentrações de soro do leite estudadas nesse trabalho. É possível perceber que elas seguem a mesma tendência com relação as curvas de tratamento de DQO.

No caso do NT, o consórcio proporciona, através das enzimas fúngicas, o aumento de moléculas de baixo peso molecular possibilitando que as microalgas consigam assimilar mais elementos nitrogenados. Além disso, a microalga é o principal microrganismo que atua na metabolização desse composto, desta forma ao proporcionar condições que permitam o maior desenvolvimento dela também é obtido uma maior remoção desse composto (YANG; LI; WANG, 2019; GAO et al., 2021).

Essa afirmação fica bem evidente analisando a concentração residual desse elemento para a intensidade luminosa de  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (0,5%:  $7,63 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 1%:  $13,08 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 2%:  $13,08 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 4%:  $20,08 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e de  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (0,5%:  $4,83 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 1%:  $8,88 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 2%:  $9,72 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 4%:  $12,92 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), na qual o último caso favorece o desenvolvimento dessa biomassa e devido a isso proporcionou quantidades menores desse poluente no meio. Nos dois casos o sistema de tratamento utilizando o consórcio alcançou teores de remoção para esse poluente superiores aos obtidos pelos microrganismos endógenos (controle) (0,5%:  $11,75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 1%:  $17,91 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 2%:  $17,56 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 4%:  $35,19 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

**Figura 22**– Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga- fungo e pelos contaminantes naturais (CNT) na remoção de NT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



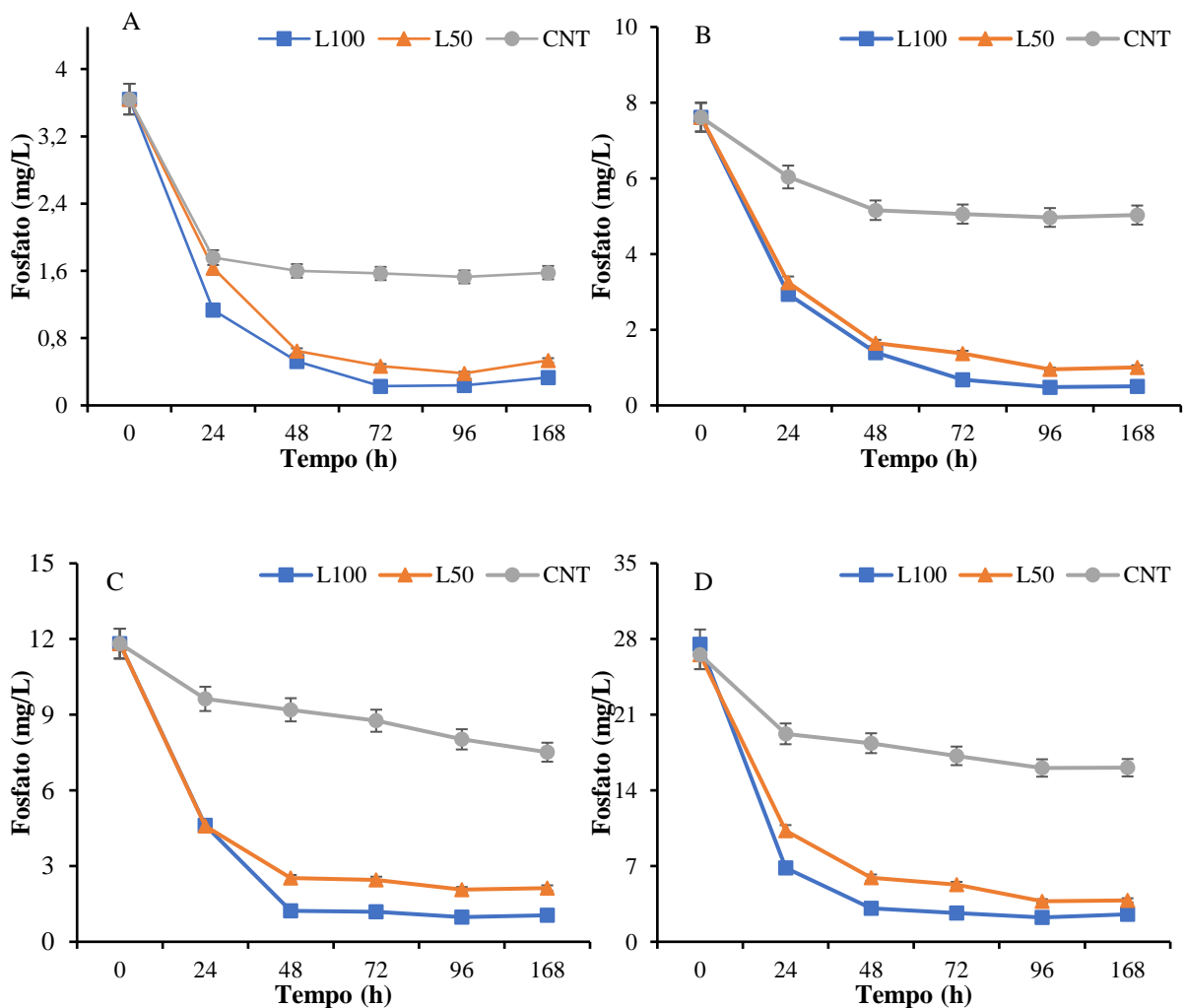
Fonte: AUTORA (2022)

Em se tratando do FT, assim como todos os casos já mostrados, a remediação promovida ao utilizar a intensidade luminosa  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (0,5%:  $0,33 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 1%:  $0,50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 2%:  $1,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 4%:  $2,54 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) foi maior do que a de  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (0,5%:  $0,53 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 1%:  $1,01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 2%:  $2,13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 4%:  $3,83 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), principalmente nas concentrações maiores de soro do leite. É importante salientar que para esse elemento tem-se uma grande influência do fungo no consumo do mesmo e em razão disso as diferenças das concentrações residuais nos dois casos não são tão grandes quando comparado às encontradas para NT. Para ambos os casos a concentração residual de FT foi menor do que a obtida quando utilizado os microrganismos endógenos (0,5%:  $1,58 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 1%:  $5,03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 2%:  $7,51 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 4%:  $16,10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), o que

aponta que esse efluente é de lenta degradação natural e a utilização de microrganismos específicos trazem enormes benefícios para o processo de remediação.

De forma geral, o sistema microalga-fungo alcançou percentuais de remoção maiores para o FT (acima de 80% para todos os casos) do que para o NT (entre 40 e 77%). Isso pode ter ocorrido em decorrência da razão C/N, de maneira que quando se tem valores próximo ou acima de 20 (C/N: de 17 a 30) é possível que os microrganismos, principalmente a microalga, acabem não conseguindo absorver de forma proporcional o carbono e o nitrogênio (MORONE et al., 2019; LI et al., 2019).

**Figura 23**– Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga- fungo e pelos contaminantes naturais (CNT) na remoção de FT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



Fonte: AUTORA (2022)

Com relação a adequação do efluente tratado aos padrões de lançamento em corpos hídricos, a CONAMA na resolução nº 430 de 2011 apresenta limites de concentração para alguns poluentes, entretanto a mesma deixa aberto para que cada estado tenha a possibilidade de determinar uma normativa, desde que se enquadre na visão geral apresentada. No Rio Grande do Sul, por exemplo, o Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA) na resolução nº 128 de 2016 coloca padrões de lançamento de efluentes baseados na vazão com que o mesmo é descartado. Desta forma, os teores de DQO ditos como limite variam de 150 a 400 mg.L<sup>-1</sup> sendo o menor valor para uma vazão superior a 10.000 m<sup>3</sup>/dia enquanto o máximo é para uma vazão menor que 20 m<sup>3</sup>/dia. Analisando os dados obtidos para o melhor sistema de tratamento estudado (consórcio microalga- CN sob intensidade luminosa de 100 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> em reator coluna de bolhas) tem-se que os teores de DQO residuais obtidos para as diferentes concentrações do soro do leite se enquadram nesse intervalo de padrão de lançamento para qualquer vazão analisada. Para nitrogênio total e fósforo as vazões variam entre valores menores que 100 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e maiores do que 10.000 m<sup>3</sup>/dia sendo que os padrões de lançamento para o nitrogênio estão entre 10 e 20 mg.L<sup>-1</sup> e para fósforo entre 1 e 4. Desta forma, os valores residuais para esses poluentes alcançados utilizando o sistema de melhor eficiência proposto nesse trabalho também se enquadram no padrão de lançamento.

Em se tratamento de normas internacionais tem-se, por exemplo, que a diretiva Europeia prevê índices de lançamento de efluentes com teores máximos de DQO, NT, PT de 125 mg.L<sup>-1</sup>, 15 mg.L<sup>-1</sup> e 2 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Comparando esses padrões de lançamento com os índices residuais desses poluentes alcançados no desenvolvimento do sistema de remediação de melhor desempenho proposto nesse estudo, percebe-se a ampla adequação dos mesmos para qualquer concentração do soro do leite avaliado (Comissão Europeia 91/271/EEC, 2014).

## 6 CONCLUSÕES

Em suma, diante do exposto, é possível concluir que a remediação promovida pelo consórcio microalga-fungo possibilita uma redução maior da carga poluidora do que os monossistemas. Associado a isso, a utilização dessa simbiose favorece o desenvolvimento desses microrganismos, que atingem uma produção de biomassa maior do que quando são usados de forma individual. Além disso, a possibilidade de captura das microalgas pelo fungo filamentososo permite que a recuperação dela seja realizada de maneira acessível e eficiente, de modo que a biomassa resultante seja um subproduto do sistema de tratamento com um amplo potencial de aplicação em diferentes processos biotecnológicos.

A análise da espécie fúngica e da intensidade luminosa, assim como a adição de ar ao meio, permitiu potencializar o sistema de tratamento alcançando percentuais de remoção maiores no mesmo período de retenção hidráulica. A maior intensidade luminosa possibilitou uma maior remoção de DQO e de NT, metabolizado principalmente pelas microalgas, entretanto o percentual de remoção para FT não teve uma diferença significativa para ambas as intensidades estudadas.

Com relação a concentração do soro do leite, foi possível verificar uma melhor performance do tratamento pela simbiose à medida que a concentração dos poluentes no meio aumentou. Essa tendência aponta grandes benefícios para o processo, de maneira que quanto menor for a necessidade de diluição do meio melhor será a operacionalização de um potencial sistema de tratamento.

Ademais, os sistemas que utilizaram o consórcio alcançaram teores de remoção da carga poluidora superiores ao que usou apenas os microrganismos endógenos, o que permite compreender que a degradação natural desse efluente não é eficiente justificando, desta forma, a necessidade de se estudar um mecanismo de remediação que promova a redução dos contaminantes de forma eficaz.

## **7 TRABALHOS FUTUROS**

Diante dos resultados obtidos nesse estudo surgem algumas perspectivas de pesquisas que podem ser associadas a essa e trazerem resultados promissores. É possível avaliar a reutilização da biomassa produzida durante a remediação em outros sistemas de tratamento avaliando o tempo de vida útil da mesma sem que ela perca a sua capacidade de remoção dos poluentes. Após a saturação dessa biomassa, ainda é viável estudar a composição da mesma e a sua possível aplicação em outros bioprocessos, como na produção de biocombustíveis ou suplementação de ração animal. Com relação ao efluentes, a avaliação da utilização do soro do leite tratado em processos de fertirrigação, por exemplo, pode ser uma alternativa viável para agregar valor ao mesmo e permitir o seu reuso.



## REFERÊNCIAS

ABIA- Associação Brasileira da Industria de Alimentos. Números do Setor, 2020. Disponível em: < <https://www.abia.org.br/numeros-setor> >. Acesso em: 14 out. 2021.

AGUIAR, R.S.; ESMERINO, E.A.; ROCHA, R.S.; PIMENTEL, T.C.; ALVARENGA, V.O.; FREITAS, M.Q.; SANT'ANA, A.S.; SILVA, A.C.O.; CRUZ, A.G. Physical hazards in dairy products: Incidence in a consumer complaint website in Brazil. **Food Control**, v. 86, p. 66-10, 2018.

AHMAD, T.; AADIL, R.M.; AHMED, H.; RAHMAN, U.; SOARES, B.C.V.; SOUZA, S.L.Q.; PIMENTEL, T.C.; SCUDINO, H.; GUIMARÃES, J.T.; ESMERINO, E.A.; FREITAS, M.Q.; ALMADA, R.B.; VENDRAMEL, S.M.R.; SILVA, M.C.; CRUZ, A.G. Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 88, p. 361-372, 2019.

AKANSHA, J.; NIDHEESH, P.V.; GOPINATH, A.; ANUPAMA, K.V.; KUMAR, M.S. Treatment of dairy industry wastewater by combined aerated electrocoagulation and phytoremediation process. **Chemosphere**, v. 253, 2020.

AKHTAR, N.; MANNAN, M. Mycoremediation: Expunging environmental pollutants. **Biotechnology Reports**, v. 26, 2020.

BÁNKUTI, F.I.; CALDAS; M.M. Geographical milk redistribution in Paraná State, Brazil: Consequences of institutional and market changes. **Journal of Rural Studies**, v. 64, p. 63-72, 2018.

BARSANTI, L., GUALTIERI, P. *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. CRC Press, ed. 2, 2014.

BEZERRA, R.A.; RODRIGUES, J.A.D.; RATUSZNEI, S.M.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Whey treatment by AnSBBR with circulation: effects of organic loading, shock loads and

alkalinity supplementation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 143, p. 257-275, 2007.

BENTAHAR, J.; DESCHÊNES, J.S. Media optimization design towards maximizing biomass production of *Tetrademus obliquus* under mixotrophic conditions. **Bioresource Technology Reports**, v. 17, 2022.

BLONSKAJA, V.; VAALU, T. Investigation of different schemes for anaerobic treatment of food industry wastes in Estonia. **Proceedings of the Estonian Academy of Sciences**, v. 55, ed. 1, p. 14- 28, 2006.

BODIN, H.; DANESHGAR, A.; GROS, N.; HULTBERG, M. Effects of biopellets composed of microalgae and fungi on pharmaceuticals present at environmentally relevant levels in water. **Ecological Engineering**, v. 91, p. 169-172, 2016.

BORJA, R.; BANKS, C.J. Response of an anaerobic fluidized bed reactor treating ice-cream wastewater to organic, hydraulic, temperature and pH shocks. **Journal of Biotechnology**, v. 39, p. 251-259, 1995.

BOUDEBBOUZ, A.; BOUDALIA, S.; BOUSBIA, A.; HABILIA, S.; GUEROUI, Y. Heavy metals levels in raw cow milk and health risk assessment across the globe: A systematic review. **Science of the Total Environment**, v. 751, 2021.

CARVALHO, F.; PRAZERES, A.R.; RIVAS, J. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. **Science of the Total Environment**, 445-446, p. 385-396, 2013.

CERRONE, F.; BARGHINI, P.; PESCIAROLI, C.; FENICE, M. Efficient removal of pollutants from olive washing wastewater in bubble-column bioreactor by *Trametes versicolor*. **Chemosphere**, v. 84, ed. 2, p. 254-259, 2011.

CHANDER, M.; ARORA, D. S.; BATH, H. K. Biodecolourisation of some industrial dyes by white-rot fungi. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 31, ed. 2, p. 94-97, 2004.

CHEN, J.; LENG, L.; YE, C.; LU, Q.; ADDY, M.; WANG, J.; LIU, J.; CHEN, P.; RUAN, R.; ZHOU, W. A comparative study between fungal pellet- and spore-assisted microalgae harvesting methods for algae bioflocculation. **Bioresource Technology**, v. 259, p. 181–190, 2018.

CHEN, H.; WANG, Q. Microalgae-based nitrogen bioremediation. **Algal Research**, v. 46, 2020.

CHOKSHI, K.; PANCHA, I.; GHOSH, A.; MISHRA, S. Microalgal biomass generation by phycoremediation of dairy industry wastewater: An integrated approach towards sustainable biofuel production. **Tecnologia Bioresource**, v. 221, p. 455-460, 2016.

CHU, R.; LI, S.; ZHU L.; YIN, Z.; HU, D.; LIU, C.; MO F., A review on co-cultivation of microalgae with filamentous fungi: Efficient harvesting, wastewater treatment and biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 139, 2021.

CLERICI, N.J.; LERMEN, A.M.; DAROIT, D.J. Agro-industrial by-products as substrates for the production of bacterial protease and antioxidant hydrolysates. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 37, 2021.

CONAMA- Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 430, de 31 de maio de 2011.

CORDI, L.; ALMEIDA, E. S.; ASSALIN, M. R.; DURAN, N. Intumescimento Filamentoso no Processo de Lodos Ativados Aplicado ao Tratamento de Soro de Queijo: Caracterização e Uso de Floculantes para melhorar a Sedimentabilidade. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 4, n. 2, p. 26-37, 2007.

CONSEMA- Conselho Estadual do Meio Ambiente. Resolução nº 128, de 07 de dezembro de 2006.

DJAMILA, C.C. Caracterização e tratamento de efluentes resultantes da actividade de produção de queijo. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.

DJELAL, H.; AMRANE, A. Biodegradation by bioaugmentation of dairy wastewater by fungal consortium on a bioreactor lab-scale and on a pilot-scale. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, p. 1906-1912, 2013.

EBRAHIMI, A.; NAJAFPOUR, G.D.; MOHAMMADI, M.; HASHEMIYEH, B. Biological treatment of whey in an UASFF bioreactor following a three-stage RBC. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**, v.16, ed. 2, p. 175-182, 2010.

European Commission. Eighth report on the implementation status and the programmes for implementation (as required by Article 17) of Council Directive 91/271/EEC concerning urban waste water treatment. 2014. Disponível em:  
<<http://data.europa.eu/eli/dir/1991/271/2014-01-01>>. Acesso em: 08 de mar. 2022.

ESPINOZA-ORTIZ, E. J.; RENE, E. R.; PAKSHIRAJAN, K.; HULLEBUSCH, E.D.V.; LENS, N.L. Fungal pelleted reactors in wastewater treatment: Applications and perspectives. **Chemical Engineering Journal**, v. 283, p. 553-571, 2016.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO STAT – Livestock, 2019. Disponível em: <<https://www.fao.org/home/en/>>. Acesso em: 14 out. 2021.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Nutrition and livestock– Technical guidance to harness the potential of livestock for improved nutrition of vulnerable populations in programme planning. Rome, 2020. <https://doi.org/10.4060/ca7348en>.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Outlook: Biannual Report on Global Food Markets. Rome, 2021.

FAO - Food and Agriculture Organization. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030, OECD Publishing, Paris, p. 178-189, 2021.

FARIZOGLU, B.; KESKINLER, B.; YILDIZ, E., NUHOGLU, A. Cheese whey treatment performance of an aerobic jet loop membrane bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 39, ed. 12, p. 2283-2291, 2004.

FARIZOGLU, B.; KESKINLER, B. Sludge characteristics and effect of crossflow membrane filtration on membrane fouling in a jet loop membrane bioreactor (JLMBR). **Journal of Membrane Science**, v. 279, ed. 1-2, p. 578-587, 2006.

FERREIRA L.R.A.; OTTO, R.B.; SOUZA, S.N.M.; ANDO JUNIOR, O.H.A. Review of the energy potential of the residual biomass for the distributed generation in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 94, p. 440- 455, 2018.

GANNOUN, H.; BOUALLAGUI, H.; TOUHAMI, Y.; HAMDI, M. Ecological clarification of cheese whey prior to anaerobic digestion in upflow anaerobic filter. **Bioresource Technology**, v. 99, ed. 14, p. 6105-6111, 2008.

GAO, Y.; GUO, L.; LIAO, Q.; ZHANG, Z., ZHAO, Y.; GAO, M.; JIN, C.; SHE, Z.; WANG, G. Mariculture wastewater treatment with Bacterial-Algal Coupling System (BACS): Effect of light intensity on microalgal biomass production and nutrient removal. **Environmental Research**, v. 201, 2021.

GAO, S.; HU, C.; SUN, S.; XU, J.; ZHAO, Y.; ZHANG, H.; Performance of piggery wastewater treatment and biogas upgrading by three microalgal cultivation technologies under different initial COD concentration. **Energy**, v. 165, p. 360-369, 2018.

GUO, G.; CAO, W.; SUN, S.; ZHAO, Y.; HU, C. Nutrient removal and biogas upgrading by integrating fungal–microalgal cultivation with anaerobically digested swine wastewater treatment. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, p. 2857-2866, 2017.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4. ed. São Paulo, 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Pesquisa Trimestral do Leite, 2022. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html?edicao=31592&t=destaques>>. Acesso em: 06 fev. 2022.

INCE, O. Potential energy production from anaerobic digestion of dairy wastewater, Part A. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 33, p.1219-1228, 1998.

JAGANMAI, G.; JINKA, R. Production of lipases from dairy industry wastes and its applications. **International Journal of Current Microbiological and Applied Sciences**, v. 5, p. 67-73, 2017.

JESUS, C.S.A; RUTH, V.G.E.; DANIEL, S.F.R.; SHARMA, A. Biotechnological alternatives for the utilization of dairy industry waste products. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 6, p. 223-235, 2015.

JANKOWSKA, E.; SAHU A.K.; POPIEL P.O. Renewable and Sustainable. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. **Energy Reviews**, v. 75, p. 692-709, 2017.

KHAN, M.F.; MURPHY, C.D. 3-Hydroxytyrosol regulates biofilm growth in *Cunninghamella elegans*. **Fungal Biology**, v. 125, ed. 3, p. 211-217, 2021.

KARADAG; D.N., KÖROGLU, O.E., OZKAYA, B., CAKMAKCI, M. A review on anaerobic biofilm reactors for the treatment of dairy industry wastewater. **Process Biochemistry**, v. 50, p.261-271, 2015.

KASMI, M. Biological processes as promoting way form both treatment and valorization of dairy industry effluents. **Waste and Biomass Valorization**, p. 1-15, 2016.

LENG, L.; LI, W.; CHEN, J.; LENG, S.; CHEN, J.; PENG, J.L.; ZHOU, W.; HUANG, H. Co-culture of fungi-microalgae consortium for wastewater treatment: A review. **Bioresource Technology**, v. 330, 2021.

LEÓN-SAIKI, G.M.; CARRERES, B.M.; REMMERS, I.M.; WIJFFELS, R.H.; SANTOS, V.A.P.M.; VEEN, D.V.; SCHAAP, P.J.; SUAREZ-DIEZ, M.; MARTENS, D.E. Evaluation of diurnal responses of *Tetradismus obliquus* under nitrogen limitation. **Algal Research**, v. 49, 2020.

LI, T.; JIANG, L.; HU, Y.; PAUL, J.T.; ZUNIGA, C.; ZENGLER, K.; BETENBAUGH, M.J. Creating a synthetic lichen: Mutualistic co-culture of fungi and extracellular polysaccharide-secreting cyanobacterium *Nostoc PCC 7413*. **Algal Research**, v. 45, 2020.

LI, K.; LIU, Q.; FANG, F.; LUO, R.; ZHOU, W.; HUO, S.; CHENG, P.; LIU, J.; ADDY, M.; CHEN, P.; CHEN, D.; RUAN, R. Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. **Bioresource Technology**, v. 291, 2019.

LI, Y.; XU, Y.; LIU, L.; LI, P.; YAN, Y.; CHEN, T.; ZHENG, T.; WANG, H. Flocculation mechanism of *Aspergillus niger* on harvesting of *Chlorella vulgaris* biomass. **Algal Research**, v. 25, p. 402–412, 2017.

LI, B.; ZHANG, T.; YANG, Z. Immobilizing unicellular microalga on pellet-forming filamentous fungus: Can this provide new insights into the remediation of arsenic from contaminated water? **Bioresource Technology**, v. 284, p. 231-239, 2019.

LUO, S.; WU, X.; JIANG, H.; YU, M.; LIU, Y.; MIN, A.; LI, W.; RUAN, R. Edible fungi-assisted harvesting system for efficient microalgae bio-flocculation. **Bioresource Technology**, v. 282, p. 325–330, 2019.

MANIRAFASHA, E.; NDIKUBWIMANA, T.; ZENG, X.; LU, Y.; JING, K. Phycobiliprotein: potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. **Biochemical Engineering Journal**, v. 109, p. 282–296, 2016.

MARTÍN-RILO, S.; COIMBRA, R.N.; MARTÍN-VILLACORTA, J.; OTERO, M. Treatment of dairy industry wastewater by oxygen injection: performance and outlay parameters from the full scale implementation. **Journal of Cleaner Production**, v. 86, p. 15-23, 2015.

MIŠÚN, D.; Čurda L.; JELEN, P. Batch and continuous hydrolysis of ovine whey proteins. **Small Ruminant Research**, v. 79, p. 51-56, 2008.

MORE, T.T.; YAN, S.; TYAGI, R.D.; SURAMPALLI, R.Y. Potential use of filamentous fungi for wastewater sludge treatment. **Bioresource Technology**, v. 101, ed. 20, p. 7691-7700, 2010.

MORONE, J.; ALFEUS, A.; VASCONCELOS, V.; MARTINS, R. Revealing the potential of cyanobacteria in cosmetics and cosmeceuticals—A new bioactive approach. **Algal Research**, v. 41, 2019.

MURPHY, C.D. Drug metabolism in microorganisms. **Biotechnology Letters**, v. 37, p. 19-28, 2015.

OXARAN, V.; LEE, S.H.I.; CHAUL, L.T.; CORASSIN, C.H.; BARANCELLI, G.V.; ALVES, V.F.; OLIVEIRA, C.A.F.; GRAM, L.; MARTINS, E.C.P. *Listeria monocytogenes* incidence changes and diversity in some Brazilian dairy industries and retail products. **Food Microbiology**, v. 68, p. 16-23, 2017.

PADRI, M.; BOONTIAN, N.; TEAUMROONG, N.; PIROMYOU, P.; PIASAI, C. Application of *Aspergillus niger* F5 as an alternative technique to harvest microalgae and as a phosphorous removal treatment for cassava biogas effluent wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 46, 2022.

PANESAR, P.S.; KENNEDY, J.F.; GANDHI, D.N.; BUNKO, K. Bioutilisation of whey for lactic acid production. **Food Chemistry**, v. 105, ed. 1, p. 1-14, 2007.

PASSEGGI, M.; LÓPEZ, I.; BORZACCONI, L. Modified UASB reactor for dairy industry wastewater: performance indicators and comparison with the traditional approach. **Journal of Cleaner Production**, v. 26, p. 90-94, 2012.



PATEL, A.K.; JOUN, J.; SIM, S.J. A sustainable mixotrophic microalgae cultivation from dairy wastes for carbon credit, bioremediation and lucrative biofuels. **Bioresource Technology**, v. 313, 2020.

PEI, X.; REN, H.; LIU, B. Flocculation performance and mechanism of fungal pellets on harvesting of microalgal biomass. **Bioresource Technology**, v. 321, 2020.

PEREIRA, C.D.; DIAZ, O.; COBOS, A. Valorization of by-products from ovine cheese manufacture: clarification by thermocalcic precipitation/microfiltration before ultrafiltration. **International Dairy Journal**, v. 12, ed. 9, p. 773-783, 2002.

PRAZERES, A.R.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 110, p. 48-68, 2012.

RAO, R.; BASAK, N. Optimization and modelling of dark fermentative hydrogen production from cheese whey by *Enterobacter aerogenes* 2822. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 46, ed. 2, p. 1777 -1800, 2021.

RAY, A.; NAYAK, M.; GHOSH, A. A review on co-culturing of microalgae: A greener strategy towards sustainable biofuels production. **Science of The Total Environment**, v. 802, 2022.

RIAÑO, B.; BLANCO, S.; BECARES, E.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M.C. Bioremediation and biomass harvesting of anaerobic digested cheese whey in microalgal-based systems for lipid production. **Ecological Engineering**, v. 97, p. 40-45, 2016.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WAERBURY, J. B.; HERDMAN, M.; STAINER, R. V. Genetic assignment, strain histories and properties of pure culture of cyanobacteria. **J Gen Microbiol**, v. 111, p. 1-61, 1979.

ROCHA, D.T.; CARVALHO, G.R.; RESENDE, J.C. Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária. EMBRAPA, Circular Técnica 123, ed. 1, 2020.

ROSERO-CHASOY, G.; RODRÍGUEZ-JASSO, R.M.; AGUILAR, C.N.; BUITRON, G.; CHAIREZ, I.; RUIZ, H. A. Microbial co-culturing strategies for the production high value compounds, a reliable framework towards sustainable biorefinery implementation – na overview. **Bioresource Technology**, v. 321, 2021.

RUGNINI, L.; ELLWOOL, N.T.W.; COSTA, G.; FALSETTI, A.; CONGESTRI, R.; BRUNO, L. Scaling-up of wastewater bioremediation by *Tetrademus obliquus*, sequential bio-treatments of nutrients and metals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 172, p. 54-64, 2019.

SADDOUD, A.; HASSAÏRI, I.; SAYADI, S. Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. **Bioresource Technology**, v. 98, ed. 77, p. 2102-2108, 2007.

SANKARAN, S.; SHANAL, S.K.; JASTI, N.; JIN, B.; POMETTO III, A. L.; LEEUWEN, H. V. Use of Filamentous Fungi for Wastewater Treatment and Production of High Value Fungal Byproducts: A Review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 40, ed. 5, 2010.

SARAIVA, C.B.; MENDONÇA, R.C.S.; SANTOS, A.L.; PEREIRA, D.A. Consumo de Água e Geração de Efluentes em uma Indústria de Laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 367, p. 10-18, 2009.

SCHENK, P. M.; THOMAS-HALL, S. R.; STEPHENS, E.; MARX, U. C.; MUSSGNUG, J.H.; POSTEN, C.; KRUSE, O.; HANKAMER, B. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. **BioEnergy Research**, v. 1, p. 20-43, 2008.

SHEN, N.; CHIRWA, E.M.N. Live and lyophilized fungi-algae pellets as novel biosorbents for gold recovery: Critical parameters, isotherm, kinetics and regeneration studies. **Bioresource Technology**, v. 306, 2020.

SILVA, C. E. F.; SFORZA, E.; BERTUCCO, A. Stability of carbohydrate production in continuous microalgal cultivation under nitrogen limitation: effect of irradiation

regime and intensity on *Scenedesmus obliquus*. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 1, p. 261–270, 2018.

SILVA, C. E. F.; BERTUCCO, A.; VIEIRA, R.C.; ABUD, A. K. S.; ALMEIDA, F. B. P. S. *Synechococcus* PCC 7002 to produce a carbohydrate-rich biomass treating urban wastewater. **Biofuels**, 2020.

SLAVOV, K.A. General characteristics and treatment possibilities of dairy wastewater—A review. **Food Technology and Biotechnology**, v. 55, p. 14-28, 2017.

SRINUANPAN, S.; CHAWPRAKNOI, A.; CHANTARIT, S.; CHEIRSILP, B.; PRASERTSAN, P. A rapid method for harvesting and immobilization of oleaginous microalgae using pellet-forming filamentous fungi and the application in phytoremediation of secondary effluent. **International Journal of Phytoremediation**, v. 20, ed. 10, p. 1017-1024, 2018.

TANG, D. Y. Y.; KHOO, K. S.; CHEW, K. W.; TAO, Y.; HO, S. H.; SHOW, P. L. Potential utilization of bioproducts from microalgae for the quality enhancement of natural products Doris. **Bioresource Technology jornal**, v. 304, 2020.

TRAVESI, D.; BONETTA, S.; DEGAN, R.; VILLA, S.; PORFIDO, A.; BELLERO, M.; CARRACO, E.; GILLI, G. Environmental advances due to the integration of food industries and anaerobic digestion for biogas production: perspectives of the Italian milk and dairy product sector. **BioEnergy Research**, v. 6, p. 851-863, 2013.

VIEIRA, R.C.; MEDEIROS, J.A.; NASCIMENTO, M.A.A; ABUD, A.K.S.; RAYMUNDO, A.; SILVA, C.E.F. Microalgae as sustainable food: incorporation as strategy in the formulation of functional food. **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**, ELSEVIER, cap. 3, p. 19-28, 2020.

XU, M.; XUE, Z.; LIU, J.; SUN, S.; ZHAO, Y.; ZHANG, H. Observation of few GR24 induced fungal-microalgal pellets performance for higher pollutants removal and biogas quality improvement. **Energy**, v. 244, 2022.

YANG, L.; LI, H.; WANG, Q. A novel one-step method for oil-rich biomass production and harvesting by co-cultivating microalgae with filamentous fungi in molasses wastewater.

**Bioresource Technology**, v. 275, p. 35-43, 2019.

YU, K.L.; SHOW, P.L.; ONG, H.C.; LING, T.C.; LAN, J.C.W.; CHEN, W.H.; CHANG, J.S. Microalgae from wastewater treatment to biochar – Feedstock preparation and conversion technologies. **Energy Conversion and Management**, v. 150, p. 1-13, 2017.

YU, J.; ELE, H.; YANG, W. L.; YANG, C.; ZENG, G.; WU, X. Magnetic bionanoparticles of *Penicillium* sp. yz11-22N2 doped with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and encapsulated within PVA-SA gel beads for atrazine removal. **Bioresource Technology**, v. 260, p. 196-203, 2018.

WAHIDIN, S.; IDRIS, A.; SHALEH, S. R. M. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 7-11, 2013.

WANG S.; RAO, N.C.; QIU R.; MOLETT R. Performance and kinetic evaluation of anaerobic moving bed biofilm reactor for treating milk permeate from dairy industry. **Bioresource Technology**, p. 5641-5647, 2009.

ZKERI, E.; LLIPOULOU, A.; KASTSARA, A.; KORDA, A.; ALOUPI, M.; GATIDOU, G.; FOUNTOULAKIS, M.S.; STASINAKIS, S. Comparing the use of a two-stage MBBR system with a methanogenic MBBR coupled with a microalgae reactor for medium-strength dairy wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 323, 2021.

ZHANG, W.; ZHAO, C.; LIU, J.; SUN, S.; ZHAO, Y.; WEI, J. Effects of exogenous GR24 on biogas upgrading and nutrient removal by co-culturing microalgae with fungi under mixed LED light wavelengths. **Chemosphere**, v. 281, 2021.

ZHAO, Y.; GUO, G.; SUN, S.; HU, C.; LIU, J. Co-pelletization of microalgae and fungi for efficient nutrient purification and biogas upgrading. **Bioresource Technology**, v. 289, 2019.

ZHOU, W.; CHENG, Y.; LI, Y.; WAN, Y.; LIN, X.; RUAN, R. Novel Fungal Pelletization-Assisted Technology for Algae Harvesting and Wastewater Treatment. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 167, p. 214-228, 2012.

ZHOU, W.; MIN, M.; HU, B.; MA, X.; LIU, Y.; WANG, Q.; SHI, J.; CHEN, P.; RUAN, R. Filamentous fungi assisted bio-flocculation: A novel alternative technique for harvesting heterotrophic and autotrophic microalgal cells. **Separation and Purification Technology**, v. 107, p. 158-165, 2013.

## APÊNDICE A – Resumo dos Ensaio Experimentais

**Tabela 10** – Resumo dos ensaios experimentais realizados em quatro etapas.

	Número do Experimento	Microrganismo	Concentração do Soro do Leite	Configuração	Condições do Processo	Caracterização Físico-química
<b>Etapa 1</b>	1	MC	0,5%	1	Shake, 90 rpm, iluminação constante, 7 dias de TRH e coleta única.	pH, peso seco celular, DQO, FT, NT.
	2	MC	1%			
	3	MC	2%			
	4	MC	4%			
	5	PN	0,5%			
	6	PN	1%			
	7	PN	2%			
	8	PN	4%			
	9	MC+PN	0,5%			
	10	MC+PN	1%			
	11	MC+PN	2%			
	12	MC+PN	4%			
	13	CN	0,5%			
	14	CN	1%			
	15	CN	2%			
	16	CN	4%			
	17	MC+CN	0,5%			
	18	MC+CN	1%			
	19	MC+CN	2%			
	20	MC+CN	4%			
<b>Etapa 2</b>	21	PN	0,5%	2	Reator coluna de bolhas, aeração, 14 dias de TRH, coleta a cada 48 h.	DQO, FT e NT
	22	PN	1%			
	23	PN	2%			
	24	PN	4%			
	25	CN	0,5%			
	26	CN	1%			
	27	CN	2%			
	28	CN	4%			
	30	MC+CN	1%			
	31	MC+CN	2%			
	32	MC+CN	4%			

	Número do Experimento	Microrganismo	Concentração do Soro do Leite	Configuração	Condições do Processo	Caracterização Físico-química
Etapa 3	29	MC+CN	0,5%	3	Reator coluna de bolhas,	DQO, FT e NT.
	30		1%		aeração, 7 dias de RH,	
	31		2%		intensidade luminosa de 50 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	
	32		4%		e coleta diária	
	33		0,5%		Reator coluna de bolhas,	
	34		1%		aeração, 7 dias de TRH,	
	35		2%		intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	
	36		4%		e coleta diária	
Etapa 4	37	Microrganismos endógenos	0,5%	2	Reator coluna de bolhas,	
	38		1%		aeração, 7 dias de TRH	
	39		2%		e coleta	
	40		4%		diária	

MC: Microalga; PN: *Penicillium oxalicum*; CN: *Cunninghamella echinulata* ; TRH: Tempo de Retenção Hidráulica; DQO: Demanda Química de Oxigênio; FT: Fosfato Total; NT: Nitrogênio Total.

Fonte: AUTORA (2022)