

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

JAQUELINE DOS SANTOS

**ESTUDO DO PROCESSO SEMICONTÍNUO DE TRATAMENTO DO SORO DO  
LEITE UTILIZANDO MICROALGAS EM SISTEMA ABERTO**

Maceió – AL, 2022

JAQUELINE DOS SANTOS

**ESTUDO DO PROCESSO SEMICONTÍNUO DE TRATAMENTO DO SORO DO  
LEITE UTILIZANDO MICROALGAS EM SISTEMA ABERTO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para Defesa do Mestrado em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva.

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

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

S237e Santos, Jaqueline dos.

Estudo do processo semicontínuo de tratamento do soro de leite utilizando microalgas em sistema aberto / Jaqueline dos Santos. – 2022. 80 f. : il. color.

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

Bibliografia: f. 61-80.

1. Indústria de laticínios. 2. Soro do leite - Tratamento. 3. *Tetrademus obliquus* (Microalga). I. Título.

CDU: 66.06


**Jaqueline dos Santos**

**ESTUDO DO PROCESSO SEMICONTÍNUO DE TRATAMENTO  
DO SORO DO LEITE UTILIZANDO MICROALGAS EM SISTEMA  
ABERTO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Alagoas,  
como requisito para a obtenção do  
Título de Mestre em Engenharia  
Química.


Aprovada em: Maceió, 31 de outubro de 2022.

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 CARLOS EDUARDO DE FARIAS SILVA  
Data: 12/11/2022 18:35:56-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>


---

Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva (Orientador – PPGEQ/UFAL)

Documento assinado digitalmente  
 RENATA MARIA ROSAS GARCIA ALMEIDA  
Data: 16/11/2022 08:56:04-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata Maria Rosas Garcia Almeida (PPGEQ/UFAL)

Documento assinado digitalmente  
 ALBANISE ENIDE DA SILVA  
Data: 14/11/2022 10:01:42-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Albanise Enide Da Silva (CTEC/UFAL)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pela força e consolação nas horas difíceis e por esta oportunidade de qualificação profissional a qual é mais uma importante etapa da minha vida.

Ao meu querido amigo e esposo Jaciel pela compreensão e incentivo dando-me apoio em todos os momentos.

Ao meus pais pelo apoio e incentivo de chegar ao fim desta formação.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva pela sua paciência, confiança e zelo na orientação acadêmica e profissional durante a realização deste trabalho.

A toda equipe do LTBA pelos ensinamentos e apoio nos experimentos. Em especial as minhas colegas Francine, Josimayra, Bruna, Margarete, Eloíse, Rosana Reis e Micaela pela ajuda e orientação para realização desse trabalho.

Por fim, agradeço a banca examinadora, professor Dra. Albanise Enide da Silva e professora Dra. Renata Maria Rosas Garcia Almeida pelas sugestões e críticas construtivas, e espero ter correspondido às expectativas.

A todos os que me contribuíram indiretamente, os meus mais sinceros agradecimentos! vocês foram essenciais para a realização dessa conquista.

## RESUMO

A indústria de laticínios é um dos setores mais importantes da indústria alimentícia, gerando uma grande quantidade de efluentes, principalmente o soro do leite o qual possui altas concentrações de DQO (demanda química de oxigênio), NT (nitrogênio total) e FT (fosfato total). As microalgas são microrganismos fotossintéticos que possuem elevada eficiência na remoção desses contaminantes, podendo serem cultivadas em sistemas abertos e em semicontínuo o qual tem menor custo e maior flexibilidade. Nesse sentido, esse trabalho tem por intuito avaliar a utilização da microalga *Tetradismus obliquus* LCE-01 no tratamento o soro do leite diluído em concentrações de 1 e 4 % em processo semicontínuo em sistema aberto sem aeração forçada e com iluminação constante de  $(100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1})$ . Para isso, o experimento de remediação foi realizado com um tempo de processo total de 16 dias (1 batelada de 7 dias e 3 ciclos semicontínuos de 3 dias) com TRV de 20, 40, 60 e 80 % em tempo de realimentação de 3 dias (configurando TRH de 15, 7,5, 5 e 3,75 dias, respectivamente) e, mantendo-se o pH entre 8 - 8,5. Os experimentos foram monitorados em relação a pH, peso seco celular, DQO, NT e FT. Em relação à DQO, valores residuais de 200 - 250 e 240 - 600  $\text{mg L}^{-1}$ , para 1 e 4 % do soro do leite se mostram ainda altos ao padrão europeu para lançamento de 125  $\text{mg L}^{-1}$ . Em relação a NT, valores residuais foram de 6 - 9,8 e 25 - 33  $\text{mg L}^{-1}$  com taxa máxima de remoção de 80 e 60 % para 1 e 4 % respectivamente, com alguns experimentos respeitando o limite para lançamento de 10 - 15  $\text{mg L}^{-1}$  e 70 - 80 % de taxa de remoção mínima. Para FT, os resíduos foram de 1 - 6 e 9 - 16  $\text{mg L}^{-1}$ , também em alguns experimentos se enquadrando na norma europeia para lançamento de 3,1 - 6,2  $\text{mg L}^{-1}$ , apesar de ter tido uma eficiência máxima de remoção de 70 e 30 % para 1 e 4 % de soro, respectivamente. Percebeu-se que o processo semicontínuo mostrou estabilidade de operação e que precisa de melhoramentos para remover uma maior quantidade de contaminante. Produziu-se entre 250 - 600  $\text{mg L}^{-1}$  de peso seco celular, sendo os maiores valores obtidos para o soro do leite 4 %. Também se verificou a importância da manutenção diária do pH do sistema para valores entre 8 - 8,5 de forma a conservar de maneira efetiva as microalgas dentro do sistema. TRVs de até 40 % para todos os contaminantes obtiveram maiores taxas de remoção (exceção de 60 e 80 % para o soro do leite 1 % mas isso precisa ser reavaliado). Como sugestões de melhoramento do sistema, pode-se citar a inclusão de aeração forçada, maiores tempos de realimentação e inserção de bactérias ou fungos filamentosos. Percebeu-se que a carga orgânica imposta com o soro diluído 4 % se mostrou em excesso, principalmente de NT e FT e etapas sequenciais podem ser necessárias para estabilização dos parâmetros residuais dos contaminantes.

**Palavras-chave:** Tratamento biológico, *Tetradismus obliquus*, indústria do leite.

## ABSTRACT

The dairy industry is one of the most important sectors of the food industry, generating a large number of effluents, mainly whey, which has high concentrations of COD (chemical oxygen demand), TN (total nitrogen), and TP (total phosphate). Microalgae are photosynthetic microorganisms that have high efficiency in removing these contaminants and can be grown in open and semi-continuous systems, which have lower costs and greater flexibility. In this sense, this work aims to evaluate the use of the microalgae *Tetradismus obliquus* LCE-01 in the treatment of whey diluted in concentrations of 1 and 4 % in a semi-continuous process in an open system without forced aeration and with constant illumination of ( $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). For this, the remediation experiment was carried out with a total process time of 16 days (1 batch of 7 days and 3 semi-continuous cycles of 3 days) with TRV of 20, 40, 60, and 80 % in a feedback time of 3 days. (setting HRT at 15, 7.5, 5, and 3.75 days, respectively) and keeping the pH between 8 - 8.5. The experiments were monitored for pH, cell dry weight, COD, TN, and TP. Regarding COD, residual values of 200 - 250 and 240 - 600  $\text{mg L}^{-1}$ , for 1 and 4 % of the whey, are still high according to the European standard for the release of 125  $\text{mg L}^{-1}$ . Regarding TN, residual values were 6 - 9.8 and 25 - 33  $\text{mg L}^{-1}$  with a maximum removal rate of 80 and 60 % for 1 and 4 % respectively, with some experiments respecting the release limit of 10 - 15  $\text{mg L}^{-1}$  and 70 - 80 % minimum removal rate. For TP, the residues were 1 - 6 and 9 - 16  $\text{mg L}^{-1}$ , also in some experiments fitting the European norm for release of 3.1 - 6.2  $\text{mg L}^{-1}$ , despite having had a maximum efficiency removal of 70 and 30 % for 1 and 4 % serum, respectively. It was noticed that the semi-continuous process showed stability of operation and that it needs improvements to remove a greater amount of contaminant. Between 250 - 600  $\text{mg L}^{-1}$  of cell dry weight was produced, with the highest values obtained for whey at 4 %. It also verified the importance of daily maintenance of the pH of the system to values between 8 - 8.5 to effectively conserve the microalgae within the system. TRVs of up to 40 % for all contaminants had higher removal rates (except 60 and 80 % for whey 1 % but needs to be re-evaluated). As suggestions for improving the system, we can mention the inclusion of forced aeration, longer refeeding times, and insertion of bacteria or fungi filaments. It was noticed that the organic load imposed with the 4 % diluted whey was in excess, mainly of TN and TP and sequential steps may be necessary to stabilize the residual parameters of the contaminants.

**Keywords:** Biological treatment, *Tetradismus obliquus*, dairy industry

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fluxograma de obtenção do soro do leite a partir da produção de queijo coalho. .	18
<b>Figura 2</b> - Curvas de crescimento de biomassa para <i>Scenedesmus</i> sp. ao longo do tempo para os ensaios: (a) concentração de efluentes de curtume de 31,6 e 88,4 % e intensidade de luz de 97,5 e 182,5 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , (b) concentração de efluentes de curtume de 20, 60 e 100 % e intensidade de luz de 80, 140 e 200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , (c) concentração de efluentes de curtume de 60 % e intensidade de luz de 140 $\mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (triplicata).	29
<b>Figura 3</b> - Esquematização dos sistemas de cultura das microalgas.	35
<b>Figura 4</b> - Sistema de tratamento utilizado na pesquisa.	42
<b>Figura 5</b> - Curva padrão de DQO.	44
<b>Figura 6</b> - Curva padrão de Fosfato total.	46
<b>Figura 7</b> – Remoção de DQO no tratamento de soro do leite 1 % (A e C) e 4 % (B e D) (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica em A) e C) Acompanhamento cinético e B) e D) % de Remoção total de DQO (barras cinzas) e quantidade de DQO residual (barras brancas), respectivamente.	50
<b>Figura 8</b> – Remoção de Nitrogênio Total (NT) no tratamento de soro do leite em função da taxa de reposição volumétrica. A) e C) Acompanhamento cinético, B) e D) % de Remoção total de NT (barras cinzas) e quantidade de NT residual (barras brancas), no tratamento do soro do leite a 1 e 4 % (v/v) respectivamente.	52
<b>Figura 9</b> – Remoção de Fosfato Total (FT) no tratamento de soro do leite em função da taxa de reposição volumétrica. A) e C) Acompanhamento cinético, B) e D) % de Remoção total de NT (barras cinzas) e quantidade de FT residual (barras brancas) para o soro 1 e 4 % (v/v), respectivamente.	55
<b>Figura 10</b> – Peso seco celular no tratamento de soro do leite 1 % (A) e 4 % (v/v) (B) em função da taxa de reposição volumétrica.	58
<b>Figura 11</b> – pH durante o tratamento de soro do leite 1 % (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica, A) 20 %, B) 40 %, C) 60 % e D) 80 % (v/v). $\blacklozenge$ representam o pH corrigido e $\square$ o pH inicial.	59
<b>Figura 12</b> – pH durante o tratamento de soro do leite 4 % (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica, A) 20 %, B) 40 %, C) 60 % e D) 80 % (v/v). $\blacklozenge$ representam o pH corrigido e $\square$ o pH inicial.	60



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Produção de leite nos estados brasileiros. ....	15
<b>Tabela 2</b> - Características de alguns tipos de águas residuais. ....	21
<b>Tabela 3</b> - Caracterização físico-química do soro do leite. ....	48

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Geral.....	13
2.2 Específicos.....	13
3. REVISÃO LITERÁRIA.....	14
3.1 Indústria de laticínios.....	14
3.1.1 Mercado brasileiro.....	14
3.1.2 Principais efluentes gerados.....	16
3.2 Soro do leite.....	17
3.2.1 Características físico-químicas.....	19
3.2.2 Métodos de tratamento.....	22
3.3 Microalgas.....	26
3.3.1 Características biológicas - fatores ambientais e nutricionais.....	26
3.3.2 Microalgas no tratamento de efluentes.....	29
3.3.3 Gênero <i>Tetradismus</i> .....	31
3.3.4 Microalgas no tratamento do soro do leite.....	32
3.4. Sistemas de cultivo utilizados pelas microalgas no tratamento de efluentes.....	34
3.4.1 Sistemas aberto e fechado.....	34
3.4.2 Cultura autotrófica, heterotrófica ou mixotrófica.....	36
3.4.3 Processo semicontínuo.....	37
3.4.4 Taxa de reposição volumétrica, tempo de realimentação e tempo de retenção hidráulico (TRH) ( <i>HRT – Hydraulic retention time</i> ) em um processo semicontínuo.....	39
4. METODOLOGIA.....	41
4.1 Coleta e armazenagem do soro do leite e microalga.....	41
4.2 Biorreator e experimentos conduzidos em semicontínuo.....	41
4.2.1 Caracterização do soro do leite e análises antes e após o tratamento.....	42
4.2.2 Peso seco celular.....	42
4.2.3 Demanda Química de Oxigênio - DQO (Método do Dicromato).....	43
4.2.4 Nitrogênio Total (método de Kjeldahl).....	44
4.2.5 Fosfato Total (método do ácido ascórbico).....	45
4.2.6 Determinação do pH.....	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1 Caracterização físico-química do soro do leite.....	48

5.2 DQO .....	49
5.3 Nitrogênio Total .....	52
5.4 Fosfato Total.....	54
5.5 Peso seco celular e pH.....	57
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	61
REFERÊNCIAS .....	62

## 1. INTRODUÇÃO

Globalmente a indústria de laticínios é um dos setores de processamento mais importantes de alimentos e bebidas, representando uma significativa parcela da indústria alimentícia, acaba por gerar uma grande quantidade de resíduos caracterizados por uma alta demanda química e biológica de oxigênio, carga orgânica, variações consideráveis no pH, nitrogênio, fósforo e sólidos suspensos. As águas residuais de laticínios geralmente contêm proteínas, sal, substâncias gordurosas, lactose, bem como resíduos de produtos químicos utilizados durante os processos de limpeza (AHMAD et al., 2019; FAO, 2021; SHI et al., 2021).

O soro de leite, subproduto remanescente da produção de queijo, é de relativa importância na indústria devido aos grandes volumes produzidos e à sua composição nutricional; a produção de 1 kg de queijo gera aproximadamente 9 L de soro de leite. O soro contém mais da metade dos sólidos presentes no leite integral original, incluindo proteínas do soro e a maior parte da lactose, minerais, vitaminas hidrossolúveis e minerais (BENTAHAR et al., 2019).

Embora várias possibilidades de utilização do soro de queijo tenham sido exploradas, grande parte da produção mundial de soro de queijo não é tratada, sendo descartada como efluente. A sua disposição como resíduo apresenta sérios problemas de poluição para o meio ambiente. Assim, embora o soro de leite que é considerado um valioso subproduto com diversas aplicações nas indústrias alimentícia e farmacêutica; no entanto, muitas vezes é tratado como um efluente. O tratamento do soro de leite representa um sério problema devido à sua alta carga orgânica, que pode atingir uma demanda química de oxigênio (DQO) de 100.000 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (BALDASSO et al., 2011; CARVALHO et al., 2013).

Os tratamentos físico-químicos visam a remoção da matéria orgânica de efluentes de laticínios até certo ponto. O sucesso desses métodos depende de quão eficiente será a formação de precipitação de componentes específicos do soro de leite (como proteínas e gordura) utilizando compostos químicos como sulfato de alumínio, cloreto férrico e sulfeto ferroso. Como o custo desses reagentes são altos e a remoção da demanda química de oxigênio não é muito efetiva usualmente se faz uso de combinações de mais de um método de tratamento usualmente com tratamentos biológicos (SINHA et al., 2019; KAUR et al., 2021).

Muitas pesquisas têm utilizado as microalgas no tratamento de águas residuais de laticínios, a fim de obter a remoção de contaminantes e formação de bioprodutos de alto valor agregado. Há muitas vantagens de se explorar os organismos fotossintéticos para aplicações industriais, principalmente na área ambiental pois ajudam no gerenciamento dos ecossistemas

aquáticos, fornecendo um sistema barato e ecologicamente correto. O uso de efluentes de laticínios para culturas de microalgas é benéfico para minimizar o uso de água doce, reduz o custo da adição de nutrientes, removendo nitrogênio, fósforo e outros nutrientes, além de produzir biomassa como um biorecurso de alto valor agregado (BENTAHAR et al., 2019; LABBÉ et al., 2017).

Assim, este trabalho visa o tratamento de água utilizando a microalga *Tetradismus obliquus*. Tendo sido avaliada a capacidade da microalga na remoção de DQO, nitrogênio e fosfato no tratamento do soro do leite nas concentrações de 1 e 4 % do soro do leite em reator aberto operado em modo semicontínuo.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Estudo da viabilidade técnica do processo semicontínuo no tratamento de águas residuais da indústria de laticínios contaminadas com soro de leite utilizando microalga *Tetrademus obliquus*.

### **2.2 Específicos**

- Tratamento do soro do leite em sistema aberto através da remoção de DQO, nitrogênio total (NT) e fósforo total (FT) em processo semicontínuo;
- Avaliação do efeito da concentração de soro no cultivo da biomassa microalgal;
- Avaliação do processo semicontínuo em função da taxa de reposição volumétrica na remoção de DQO, NT e FT, e produção de biomassa microbiana;
- Avaliação da diluição do soro do leite no processo semicontínuo em função da taxa de reposição volumétrica na remoção dos contaminantes;
- Avaliação da carga orgânica do soro do leite no processo semicontínuo na remoção dos contaminantes e produção de biomassa microbiana.

### **3. REVISÃO LITERÁRIA**

#### **3.1 Indústria de laticínios**

A indústria de laticínios é uma das principais indústrias com importância econômica no setor agrícola. Um aumento constante na demanda de leite e produtos lácteos em muitos países levou a um enorme crescimento nas indústrias de laticínios no mundo (FAO, 2021).

A produção global de leite em 2021 atingiu quase 928 milhões de toneladas em relação ao ano anterior, aumento de 1,4 %. O comércio internacional de lácteos aumentou 4,2 % em 2021 isso devido ao aumento da importação de países como China, Argélia, Arabia Saudita e Brasil. Nesse período, o Brasil para suprir o déficit de abastecimento interno precisou importar queijo e leite em pó integral, que emergiu da menor produção de leite devido ao prolongado período de estiagem entre maio e outubro e o aumento do consumo de leite devido a pandemia (FAO, 2021a; FAO, 2021b).

A indústria de laticínios está relacionada ao processamento do leite cru em produtos como leite líquido fresco, leite pasteurizado, esterilizado, homogeneizado e/ou tratado com ultra aquecimento; bebidas à base de leite; creme de leite; leite em pó ou concentrado, mesmo adoçado; leite ou creme na forma sólida; manteiga; iogurte; queijo e requeijão; soro de leite; e caseína ou lactose (VALTA et al., 2017)

##### **3.1.1 Mercado brasileiro**

Segundo dados Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2021a, a produção de leite in natura do Brasil atingiu a marca de 35,305 bilhões de litros de leite. A atividade leiteira no Brasil é distribuída em quase todos estados do Brasil.

O setor de lácteos brasileiro é composto por leite e seus derivados (como creme de leite, leite em pó, iogurte, manteiga e queijos), apresenta-se como o 3º maior produtor mundial dessa cadeia. No Brasil ele apresenta valor bruto de produção (VBP) em 2021 de cerca de R\$ 1.129 trilhão um aumento de 10,1% em relação ao ano anterior, desse valor a agropecuária representa 68 % e a pecuária 32 %. Atualmente a produção de leite está presente em todo o território nacional e em mais de 99 % dos municípios brasileiros segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021b; GOV.BR, 2022).

Segundo dados do IBGE (2020), os cinco maiores estados em produção concentraram quase 70 % do total nacional, com Minas Gerais detendo participação de 27,34 %, seguido do

Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás e Santa Catarina com 13,09, 12,10, 9,0 e 8,85 %, respectivamente (**Tabela 1**).

**Tabela 1** - Produção de leite nos estados brasileiros.

<b>Estado</b>	<b>Produção (mil litros)</b>	<b>Participação prod. Brasil</b>	<b>Participação acumulada</b>	<b>Valor da produção (mil reais)</b>
Minas Gerais	9.692.389	27,34%	27,34%	R\$ 15.991.870,00
Paraná	4.638.685	13,09%	40,43%	R\$ 7.767.393,00
Rio Grande do Sul	4.290.389	12,10%	52,54%	R\$ 6.939.179,00
Goiás	3.188.868	9,00%	61,53%	R\$ 4.751.050,00
Santa Catarina	3.137.219	8,85%	70,38%	R\$ 5.050.848,00
São Paulo	1.645.381	4,64%	75,03%	R\$ 2.808.781,00
Rondônia	998.978	2,82%	77,84%	R\$ 1.170.894,00
Bahia	1.064.599	3,00%	80,85%	R\$ 1.657.768,00
Pernambuco	1.062.330	3,00%	83,84%	R\$ 1.674.789,00
Ceará	870.558	2,46%	86,30%	R\$ 1.418.052,00
Mato Grosso	617.992	1,74%	88,04%	R\$ 816.757,00
Pará	600.675	1,69%	89,74%	R\$ 841.042,00
Alagoas	615.297	1,74%	91,47%	R\$ 955.727,00
Rio de Janeiro	443.639	1,25%	92,73%	R\$ 685.555,00
Espírito Santo	392.474	1,11%	93,83%	R\$ 656.647,00
Tocantins	423.214	1,19%	95,03%	R\$ 626.678,00
Sergipe	360.093	1,02%	96,04%	R\$ 540.771,00
Maranhão	358.278	1,01%	97,05%	R\$ 482.293,00
Rio Grande do Norte	290.768	0,82%	97,87%	R\$ 538.436,00
Mato Grosso do Sul	295.940	0,83%	98,71%	R\$ 402.181,00
Paraíba	252.423	0,71%	99,42%	R\$ 381.535,00
Piauí	69.342	0,20%	99,62%	R\$ 151.553,00
Amazonas	43.533	0,12%	99,74%	R\$ 69.263,00
Acre	42.561	0,12%	99,86%	R\$ 48.222,00
Distrito Federal	29.275	0,08%	99,94%	R\$ 43.913,00
Roraima	15.310	0,04%	99,99%	R\$ 27.538,00
Amapá	4.848	0,01%	100,00%	R\$ 12.111,00
<b>Total</b>	<b>35.445.058</b>	<b>100,00%</b>	<b>100,00%</b>	<b>R\$ 56.510.846,00</b>

Fonte: IBGE (2020)



Segundo o relatório da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) do período de 2017 - 2018 (IBGE, 2020) os queijos entre os produtos lácteos perdem apenas para o leite fluido, representando quase 18 % dos lácteos consumidos no País.

### 3.1.2 Principais efluentes gerados

Dentre as indústrias que geram grandes volumes de águas residuais e a liberação de substâncias tóxicas no meio ambiente incluem as indústrias de alimentos, destilarias e papel, entre outras (FINNEGAN et al., 2018; AHMAD et al., 2019). A indústria de laticínios é considerada uma das maiores produtoras de efluentes. Embora esses efluentes contenham os principais componentes do leite, seu impacto ambiental pode ser relevante devido ao alto teor de matéria orgânica e nutrientes, e porque a degradação de certos compostos, ou seja, gorduras, pode ser lenta (OMIL et al., 2003). Este impacto é significativo no meio ambiente devido ao consumo excessivo de água (de 8,0 - 35,0 L de água por kg de leite) e à alta produção de efluentes (de 0,2 - 10 L de efluente por litro de leite processado) (MANSOORIAN et al., 2016; AKANSHA et al., 2020).

A indústria de laticínios envolve o processamento e fabricação de leite cru em produtos como iogurte, sorvete, manteiga, queijo e vários tipos de sobremesas. Todas as etapas neste setor, incluindo a fabricação de produtos lácteos, embalagem e armazenamento de produtos, marketing e distribuição, afetam o meio ambiente. As características dos efluentes de laticínios podem variar significativamente, dependendo dos produtos finais obtidos. A fabricação de queijos lança três tipos principais de efluente: ou seja, soro de queijo, segundo soro de queijo (por exemplo, resultante da produção de queijo *cottage*), e as águas de lavagem dos oleodutos e outras instalações (SHI et al., 2021; KAUR et al., 2021). Além disso, outros setores devem ser levados em consideração como: salas de ordenha e água de lavagem de laticínios, derramamento de leite, escoamento de áreas sujas de quintal, água de drenagem de telhados de edifícios, efluente de silagem e ocasionalmente lixiviado de montes de esterco (MARTÍNEZ-SULLER, et al 2010; CUMBY et al. 1999). Devido aos rígidos requisitos legislativos para qualidade de efluentes, esses resíduos devem ser tratados antes de serem descarregados em corpos de águas.

O soro resultante do queijo *cottage* (segundo soro) é altamente poluente e contém altas concentrações de proteínas, nitrogênio total, fósforo, açúcares dissolvidos e vários outros nutrientes. Também é caracterizado por alto valores de demanda química de oxigênio dissolvido (DQO), demanda biológica de oxigênio (DBO) e sólidos suspensos totais com

valores de 60 - 80, 30 e 8 g L<sup>-1</sup>, respectivamente (CANNON et al., 2000; CARVALHO et al., 2013; MARTÍNEZ-SULLER et al 2010; KUSHWAHA, 2011).

Além disso, os materiais não comestíveis usados nos processos contêm substâncias inorgânicas que, por si mesmas, ou adicionadas àquelas de produtos lácteos representam um potencial problema de contaminação (KARADAG et al., 2015). Os compostos inorgânicos frequentemente usados incluem fosfatos (usados como defloculantes e emulsificantes em produtos de limpeza), cloro (usado em detergentes e produtos desinfetantes) e nitrogênio (contido em agentes umectantes e desinfetantes). Essas condições fazem com que aumente o processo de eutrofização, o risco para a saúde humana e os ecossistemas (PRAZERE et al., 2012; STANCHEV et al., 2020; AHMAD et al., 2019).

Um tratamento adequado das águas residuais de laticínios é necessário para evitar a eutrofização das águas superficiais e subterrâneas, o comprometimento da vida aquática e minimizar o efeito da adição de efluentes à terra. Este último pode levar à degradação da estrutura do solo, salinização, alagamento, contaminação química e/ou erosão (ARMC, 1999).

### **3.2 Soro do leite**

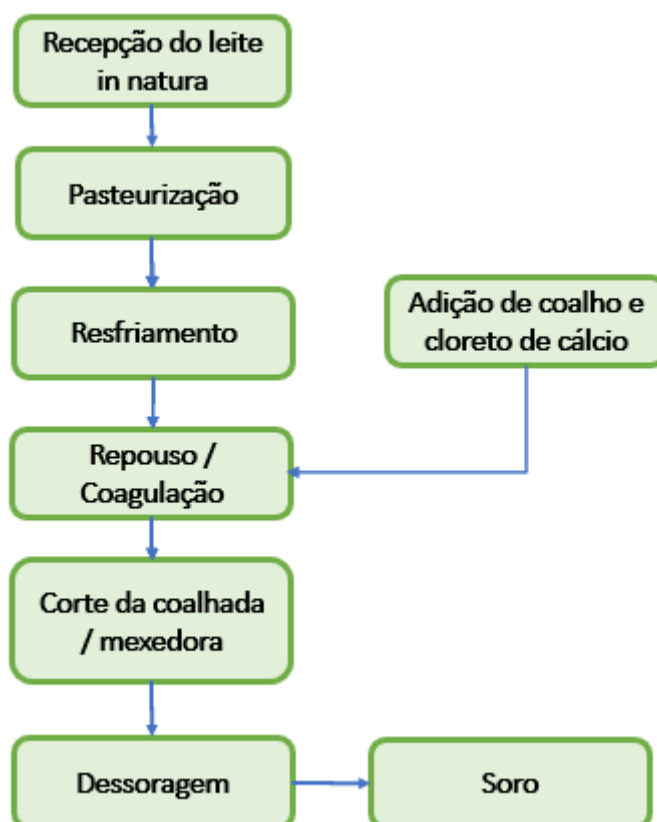
Segundo a definição da legislação internacional de alimentos o soro de leite é a parte fluida que resulta após a separação da coalhada (parte sólida) quando ocorre a coagulação do leite por enzimas ácidas ou proteolíticas, nata, leite desnatado ou leitelho com as enzimas coagulantes do leite durante a fabricação de queijo, caseína ou produtos semelhantes (WHO, 1995). O tipo e a composição do soro de leite nas fábricas de laticínios dependem principalmente da técnica de processamento que resulta na remoção da caseína do leite fluido (MOULIN; GALZIN, 1984; PANESAR; KENNEDY, 2012). Assim em uma grande fábrica de queijo pode gerar mais de 1 milhão de litros de soro de leite diariamente (JELEN, 2003).

O tipo de soro mais frequentemente encontrado é proveniente da fabricação de queijo ou certos produtos de queijo de caseína, em que o processamento se baseia na coagulação da caseína por coalho, uma preparação industrial de coagulação de caseína contendo quimosina ou outras enzimas coagulantes de caseína. Uma vez que a coagulação da caseína induzida pelo coalho ocorre a aproximadamente pH 6,5, este tipo de soro é referido como soro doce. O segundo tipo de soro, soro ácido (pH < 5), resulta de processos que utilizam fermentação ou adição de ácidos orgânicos ou minerais para coagular a caseína, como usado na fabricação de queijos frescos ou na maioria das caseínas industriais (JELEN, 2003).

Os principais componentes do soro de leite doce e ácido, depois da água, são lactose (70 – 72 % dos sólidos totais), proteínas do soro (8 – 10 %) e minerais (12 – 15 %). As principais diferenças entre os dois tipos de soro estão no conteúdo mineral, na acidez e na composição da fração proteica do soro (PANESAR; KENNEDY, 2012; JELEN, 2003).

Cerca de 9 L de soro de leite são gerados para cada quilograma de queijo fabricado. A **Figura 1** mostra um exemplo de um processo geral de fabricação de queijo coalho. O soro do queijo gerado pode ser de 85 – 95 % do volume total do leite utilizado e ele retém cerca de 55 % dos seus nutrientes do leite, nomeadamente lactose (4,5 – 5,0 % m/v), proteínas solúveis (0,6 – 0,8 % m/v), lipídios (0,4 – 0,5 % m/v), sais minerais (8 – 10 % de extrato seco) e outros componentes menores como quantidades apreciáveis de outros componentes como vitaminas do grupo B, ácido pantotênico, riboflavina, tiamina, vitamina C e retinol, além de ácido láctico, ácido cítrico e, compostos nitrogenados não-proteicos (ureia e ácido úrico) (SISO, 1996; DRAGONE et al., 2009).

**Figura 1** - Fluxograma de obtenção do soro do leite a partir da produção de queijo coalho.



Fonte: Adaptação de LIRA et al., 2009.

A produção mundial de soro é estimada em cerca de 180 a  $190 \times 10^6$  ton / ano; deste montante, aproximadamente 50 % são tratados e transformados em diversos produtos alimentícios, dos quais cerca de 45 % são utilizados diretamente na forma líquida, 30 % na forma de soro de queijo em pó, 15 % como lactose e subprodutos deslactosados, e resto como concentrados de proteína de soro de queijo (PANESAR; KENNEDY, 2012; SVALOV, 2017; BALDASSO et al., 2011)

O soro de leite pode ser considerado um valioso subproduto com diversas aplicações nas indústrias alimentícia e farmacêutica; no entanto, muitas vezes é tratado como um efluente de laticínios. O tratamento do soro de leite representa um sério problema devido à sua alta carga orgânica, que pode atingir uma demanda química de oxigênio (DQO) de  $100 \text{ g O}_2 \text{ L}^{-1}$  (BALDASSO et al., 2011).

### 3.2.1 Características físico-químicas

Entre os componentes encontrados no soro do queijo, a lactose e as proteínas solúveis são os mais relevantes. As proteínas possuem alto valor nutricional, pois contêm todos os aminoácidos essenciais e a lactose fonte energética para diversos processos biotecnológicos e como componente utilizado na indústria farmacêutica e alimentícia (GIROTO; PAWLOWSKY, 2001; PRAZERES et al., 2012).

Os efluentes de queijo representam um impacto ambiental significativo na indústria de laticínios devido às suas características físico-químicas tais como: sólidos totais em suspensão ( $0,1 - 22 \text{ g L}^{-1}$ ), pH (3,3 - 9,0), fósforo ( $0,006 - 0,05 \text{ g L}^{-1}$ ), nitrogênio total Kjeldahl ( $0,01 - 1,7 \text{ g L}^{-1}$ ), carga orgânica ( $0,6 - 102 \text{ g L}^{-1}$ ). O alto valor da matéria orgânica é causado pelos teores de lactose ( $0,18 - 60 \text{ g L}^{-1}$ ), proteínas ( $1,4 - 33,5 \text{ g L}^{-1}$ ) e gorduras ( $0,08 - 10,58 \text{ g L}^{-1}$ ). Também há a presença de sais minerais no soro (cerca de 0,46 a 10 %), principalmente NaCl e KCl (aproximadamente 50 %) e sais de cálcio (principalmente fosfatos), essa salinidade é em consequência da adição de NaCl no processo de produção de queijo. Outros compostos menores como ácido cítrico e láctico (0,02 - 0,05 %), compostos nitrogenados não proteico como ureia e ácido úrico e vitaminas do complexo B. Devido aos altos valores de nitrogênio e fósforo, os efluentes do queijo representam um risco considerável de eutrofização aos corpos d'água. (CARVALHO et al., 2013; DRAGONE et al., 2009; PRAZERES et al., 2012)

Entre os componentes encontrados no soro do queijo, a lactose e as proteínas solúveis são os mais relevantes. As proteínas possuem alto valor nutricional, pois contêm todos os aminoácidos essenciais e a lactose fonte energética para diversos processos biotecnológicos e

como componente utilizado na indústria farmacêutica e alimentícia (GIROTO; PAWLOWSKY, 2001).

A lactose, que na hidrólise produz glicose e galactose, é o grande responsável por sua alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO, cerca de 30 - 50 g L<sup>-1</sup>, em média) e demanda química de oxigênio (DQO, cerca de 60 - 80 g L<sup>-1</sup>, em média). Além deste carboidrato, o soro de queijo também contém proteínas, lipídios, vitaminas solúveis em água e minerais (SISO, 1996). As proteínas do soro são tipicamente globulares, tendo relativamente uma alta hidrofobicidade e suas cadeias peptídicas são dobradas, compactando-se. A porção proteica contém, aproximadamente, 50 % de  $\beta$ -lactoglobulina, 25 % de  $\alpha$ -lactoalbumina e 25 % de outras proteínas, incluindo imunoglobulinas (FITZSIMONS et al., 2007). As proteínas do soro de queijo possuem elevado conteúdo dos aminoácidos essenciais, em especial lisina, treonina, triptofano, fenilalanina e tirosina e constitui um sério problema das indústrias de laticínios devido ao seu alto teor de matéria orgânica (DRAGONE et al., 2009; LIU et al., 2000).

O extrato seco do soro de leite é aproximadamente de 7 %, onde 4,5 % correspondem à lactose, 0,9 % às proteínas solúveis e 0,6 % a sais minerais, quantidades estas dependentes dos procedimentos utilizados no processo de fabricação de queijo e métodos utilizados na obtenção do soro em pó. O soro ácido possui o maior teor de cinzas e menor teor de proteínas em relação ao soro doce. Isso ocorre porque a coagulação ácida ocorre próximo ao pH isoeletrico da caseína (pH 4,6), como consequência mais proteína do leite precipita (CARVALHO et al., 2013; GIROTO; PAWLOWSKY, 2001).

A **Tabela 2** mostra as concentrações de DQO, DBO, Nitrogênio Total, Amônia e Fósforo para alguns efluentes. Para efluentes industriais percebe-se os maiores valores de DQO e DBO variando entre 0,06 – 1680 g O<sub>2</sub>L<sup>-1</sup> e 0,007 – 1307 g O<sub>2</sub>L<sup>-1</sup> respectivamente. Entretanto para nutrientes como nitrogênio e fósforo os valores dependem do tipo de efluente, sendo os digestatos com concentração maior pois no processo de digestão anaeróbica não há remoção expressiva nas formas gasosas do biogás, se mantendo na fase líquida. Percebe-se que para o soro do leite/queijo, esses contaminantes são muito elevados (SILVA et al., 2019).

**Tabela 2** - Características de alguns tipos de águas residuais.

	<b>Efluente</b>	<b>DQO g O<sub>2</sub>L<sup>-1</sup></b>	<b>DBO g O<sub>2</sub>L<sup>-1</sup></b>	<b>Nitrogênio Total mg L<sup>-1</sup></b>	<b>Amônia mg L<sup>-1</sup></b>	<b>Fósforo mg L<sup>-1</sup></b>
<b>Urbano</b>	Efluente da planta de tratamento de efluente de Saint Nazaire, France	0,169	Não informado	65	62	5,4
	Efluente urbano da cidade de La Linea de la Concepcion	0,384	Não informado	54,58	Não informado	12,70
	Efluente da planta de tratamento de efluente de Valladolid	0,259	Não informado	80****	80	14,2
	Efluente de uma estação de tratamento de efluentes na Espanha	151,4	42	92,4	Não informado	Não informado
	Esgoto	12,63	0,050	40****	40	Não informado
	Chorume de um aterro sanitário na Malásia	0,950	0,184	1185****	1185	Não informado
	Água residual da planta de tratamento da cidade de Edimburgo, United Kingdom	0,142	Não informado	Não informado	Não informado	3,2
<b>Industriais</b>	Vinhaça diluída 50% em água	8,93 ± 1,45	3,74 ± 0,20	21,59**	Não detectado*	11,95 ± 0,35
	Vinhaça 100% clarificada	22,65 ± 2,64	9,64 ± 0,69	48,81***	9,25 ± 2,52	18,47 ± 3,29
	Efluente de uma indústria de azeite	0,0572	0,00687	Não informado	Não informado	Não informado
	Esgoto do canal de agricultura Indiano	2,2	0,0024	105,83	21,26	3,162
	Efluente de uma indústria de óleo de palma	100	43,75	1400	80	Não informado
	Soro de queijo	147 ± 7	97 ± 4	805 ± 48	103 ± 9	400 ± 20
	Glicerol	1680 ± 154	1307 ± 360	Não detectado	Não detectado	Não detectado
	Borra de vinho branco	181 ± 11	162 ± 13	219 ± 4	32,2 ± 1,3	150 ± 8
<b>Digestatos</b>	Ultrafiltrado Digestate	1,52 ± 0,03	0,554 ± 0,03	1377 ± 41	1155 ± 35	300 ± 18
	Resíduos Zootécnicos (Líquido Digestate)	14,1	4	1630	1400	716
	Resíduos Vegetais (Líquido Digestate)	22,12	6,41	2890	2000	66
	Resíduos Sólidos Municipais (Líquido Digestate)	19,8	5	3370	2650	24
	Digestato	2,661	Não informado	2667	2276	381
	Digestato obtido do lodo de tratamento	0,715	Não informado	1311	1279	12

\*Menor que 5 mg.L<sup>-1</sup>.\*\* Maioria Nitrato (21,49 mg L<sup>-1</sup>).\*\*\* Maioria Nitrato (39,41 mg L<sup>-1</sup>).

\*\*\*\* 100% de amônia, não apresentou nitrato e nitrito.

Fonte: SILVA et al. (2019).

### 3.2.2 Métodos de tratamento

A indústria de laticínios, como muitas outras, enfrenta o desafio do aumento dos custos de tratamento e descarte de águas residuais. No entanto, os sistemas convencionais de tratamento de água existentes são frequentemente carregados além dos fluxos de projeto, causando uma operação ineficiente que leva a uma carga financeira excessiva que afeta os resultados financeiros da empresa (RAD; LEWIS, 2014; KARADAG et al., 2015).

Há quatro tipos usuais de princípios do tratamento de efluentes: o tratamento mecânico onde se faz a sedimentação e filtração, retirando as partículas maiores; o tratamento químico envolve as técnicas de precipitação que é a adição de floculantes como sais de alumínio e ferro; o tratamento físico-químicos como coagulação, eletrocoagulação, tratamento de membrana, adsorção e o tratamento biológico que faz uso de microrganismos aeróbicos ou anaeróbicos como no processo de lodo ativado e digestão anaeróbica (KAUR et al, 2021; SINHA et al., 2019).

Atualmente, existem vários métodos e tecnologias utilizadas para o tratamento de águas residuais de laticínios, como um reator de lote de sequenciamento, leito de lodo aeróbio/anóxico ascendente, tratamento eletroquímico, biorreator de membrana (MBR), e tratamento anaeróbio etc. (GÖBLÖS et al., 2008; CHOI et al. 2016; AMINI et al., 2013; GUVEN et al., 2008; ANDRADE et al., 2014; DEMIRE et al., 2005). Para esses métodos, o critério mais importante para selecionar qual sistema de tratamento instalar é que seja flexível o suficiente para superar as constantes flutuações na carga orgânica e que mantenha o processo economicamente viável (KUSHWAHA; SRIVASTAVA, 2011). Esses vários métodos foram relatados por remover entre 73 – 98 % dos nutrientes nas águas residuais do leite. Após o tratamento de águas residuais de laticínios, a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO) e sólidos suspensos (SS) das águas residuais de laticínios tratadas foram significativamente reduzidos pelos métodos indicados acima (KUSHWAHA; SRIVASTAVA, 2011; KUMAR et al., 2015).

Como os métodos de tratamento usados para efluentes de laticínios são físico-químicos ou biológicos. O tratamento biológico destas águas residuais é o mais preferido e é realizado por grupos diferentes de microrganismos como por exemplo as bactérias e microalgas. (PITTMAN et al., 2011; TSOLCHA et al., 2016).

### 3.2.2.1 *Tratamentos físico-químicos*

Os tratamentos físico-químicos permitem a remoção parcial da carga orgânica do soro do leite, tendo melhorias relevantes na turbidez, redução de contaminantes orgânicos e inorgânicos, quantidade de sólidos suspensos como também na recuperação de compostos com valor agregado como proteínas do soro. Entre os diferentes tipos de processos físico-químicos dos tratamentos de efluente disponíveis, a coagulação/floculação é o mais simples e econômico que faz uso de coagulantes químicos ou naturais. Algumas variantes desse tipo de tratamento são a coagulação eletroquímica e eletrocoagulação que utilizam respectivamente eletrodos de ferro e correntes elétricas através de placas de metal imersas no efluente. Estes processos possuem uma menor produção de lodo e águas com uma melhor limpidez, palatáveis, incolores e inodoras. No entanto, o uso de eletricidade o torna um processo caro (CARVALHO et al., 2013; SINHA et al., 2019; PRAZERES et al., 2012; KASMI et al., 2017).

Outros métodos são a separação por membrana, precipitação e a adsorção que efetuam a eliminação de uma quantidade relevante de contaminantes orgânicos não degradáveis das águas residuais. O carvão ativado é o adsorvente mais utilizado nesse tipo de tratamento, mas vem se pesquisando outros adsorventes de baixo custo como casca de arroz e pó de palha dentre outros (PATHAK et al, 2016). A separação por membrana desempenha um papel fundamental no tratamento de águas residuais, recuperação de água e aplicações de dessalinização. Os processos comuns de separação por membrana, como microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, osmose reversa e eletrodialise, são usados para remover contaminantes das águas residuais de laticínios. Esses processos funcionam efetivamente em baixas temperaturas e baixos requisitos de energia. Acima de tudo, é possível uma recuperação de produto altamente viável. No entanto, os custos do equipamento são altos e ocorre incrustação da membrana que ocasiona a redução do fluxo (PRAZERES et al, 2012; SINHA et al., 2019; VALTA et al, 2017).

Na precipitação proteica do soro do queijo ocorre de várias formas como a utilização de temperatura moderada e o auxílio da precipitação de cálcio (precipitação termocálcica), ou em temperaturas elevadas (precipitação térmica) ou por diminuição do pH até atingir o ponto isoelétrico das micelas (precipitação isoelétrica) ou com agentes coagulantes/floculantes. Na precipitação ainda resulta em efluente com quantidades relevantes de lactose, o que gera um sobrenadante com aproximadamente 54 g L<sup>-1</sup> de DQO (PRAZERES et al, 2012).



### 3.2.2.2 Tratamentos biológicos

O tratamento biológico é uma das opções mais promissoras para a remoção de matéria orgânica de efluentes de laticínios levando em consideração ao custo e taxa de remoção dos contaminantes. Os tratamentos convencionais de efluentes lácteos são baseados em processos de digestão anaeróbica e aeróbica. Vários pesquisadores afirmaram que os processos anaeróbios são essencialmente o único método viável de tratamento de águas residuais com alta carga orgânica de fábricas de queijo. Isso porque na digestão aeróbia para cada quilograma de DQO degradado são formados 0,6 kg de lodo e cerca de 0,1 kg permanece no efluente final, enquanto na digestão anaeróbica a formação de lodo é de 0,1 kg de lodo por quilograma de DQO degradado (BLONSKAJA et al., 2006; CARVALHO et al., 2013; GUTIÉRREZ et al., 1991; PRAZERES et al., 2012; SAYEDM et al., 1988).

A digestão aeróbia é caracterizada pela rápida degradação da matéria orgânica à temperatura ambiente em um curto tempo de retenção hidráulica. Esse tipo de tratamento não é viável em efluentes com uma alta carga orgânica devido as limitações na transferência de oxigênio como é o caso do soro do leite tornando inviável o uso da digestão aeróbia. Para o bom funcionamento do processo aeróbico deve haver quantidades ideais entre carbono, nitrogênio e fósforo em processos aeróbicos **essa proporção é de 100:5:1** respectivamente em comparação com 500:5:1 do processo anaeróbico. As altas taxas de contaminantes como proteínas e gorduras das águas residuais de laticínios causam um crescimento excessivo de microrganismos filamentosos ocasionando dificuldades na sedimentação do lodo (CORDI et al., 2007; JANCZUKOWICZ et al., 2008; PRAZERES et al., 2012). Devido a essas limitações a maioria dos estudos até agora relatados sobre digestão aeróbica foram conduzidos com o soro do queijo diluído. Na pesquisa de Cordi et al. (2007) estudou-se a aplicação de lodos ativados do soro do queijo diluído, utilizaram duas razões de diluição e tempos de retenção diferentes (diluição 1/100 em 6 h e 1/10 em 36 h) obtendo uma remoção de DQO entre 93,6 - 95,3 % para o de 1/100, enquanto o de 1/10 ainda tinha quantidades de DQO residual acima do permitido.

No processo aeróbico dois tipos tecnologias de biorreatores se destacam pela sua eficiência que é o reator de jato com reciclo interno (*jet loop reactor* – JLBR's) e os biorreatores de membrana de jato (*jet loop membrane bioreactors* – JLMBR's). Os reatores JLBR's conseguem tratar soro de queijo diluído (DQO de até 36 g L<sup>-1</sup>), são caracterizados por uma alta transferência e mistura de oxigênio, capacidade de turbulência, tamanho pequeno e custos reduzidos em termos de instalação e consumo de energia. Os biorreatores de membrana de jato (*jet loop membrane bioreactors* – JLMBR's) os quais demonstraram uma alta eficiência de

redução de DQO (99 %) também tem alta eficiência nas remoções de nitrogênio total (99 %) e fosfato (65 – 88 %). Mesmo nesses tipos de reatores ainda o lodo gerado apresenta alguns problemas de decantação e a taxa de fluxo através das membranas diminui com o tempo de uso (CARVALHES et al, 2013; FARIZOGLU et al., 2007; PRAZERES et al., 2012).

Na digestão anaeróbica do soro de queijo é realizado em condições mesofílicas (35 - 37 °C). Os principais produtos formados são polipeptídeos, aminoácidos e amônia, mas algumas proteínas como a caseína são resistentes à degradação por microrganismos, sendo necessária a utilização de microrganismos específicos. Em contrapartida os hidrocarbonetos têm uma fácil biodegradação e a lactose pode ser convertida diretamente em ácido propiônico, etanol e acetato. Entretanto, os produtos obtidos podem causar a inibição parcial na fase de metanogênese (PRAZERES et al., 2012; VIDAL et al., 2000).

A via anaeróbica possui uma alta eficiência de remoção de carga orgânica, porém os baixos valores de alcalinidade podem ocasionar falhas em digestores anaeróbios. Isso acontece devido a taxa de degradação dos ácidos graxos voláteis (AGV) gerados por bactérias metanogênicas ser menor do que a produção das bactérias acidogênicas. A baixa concentração de carbonato evita seu efeito tamponante e ocorre a acidificação subsequente do meio reacional. Como resultado, o tratamento anaeróbio apresenta dificuldades em manter uma operação estável que tem dificuldade em biodegradar lipídios e a presença de gorduras pode causar flutuação do lodo (CARVALHO et al., 2013; PRAZERES et al., 2012).

Para contornar esses problemas alguns pesquisadores têm proposto diferentes alternativas, como a suplementação de alcalinidade com cal (GANNOUN et al., 2008; PATEL et al., 1995), hidróxido de sódio (CORDI et al., 2007; GHALY, 1996); bicarbonato de sódio e bicarbonato de potássio (ERGÜDER et al., 2001; FRIGON et al., 2009). Um outro fator desfavorável desse processo é o um aumento na viscosidade quando utilizados efluentes com DQO superior a 2 g L<sup>-1</sup> que prejudica a granulação da biomassa levando à sua flotação. (MOCKAITIS et al., 2006).

Os tipos de reatores mais utilizados são do tipo manta de lodo anaeróbico de fluxo ascendente (UASB) e filtro anaeróbico de fluxo ascendente (UAF), possuem uma alta eficiência em tratar o soro do leite em sua forma diluída em reatores UASB removem até 97 % de DQO com concentrações iniciais de 55,7 – 58,4 g.L<sup>-1</sup> e uma alta produção de metano, em um tempo de retenção curto (2,1 - 2,5 dias). Entretanto, a DQO residual (1,7 - 2,7 g.L<sup>-1</sup>) é maior do que o permitido. De acordo Gannoun et al. (2008) utilizando soro pré-tratado em reator UAF minimizou os problemas ocasionados pela gordura e proteínas, resultando na remoção de DQO

(concentração inicial de 15 g. L<sup>-1</sup>) de 95 % e a concentração residual (0,75 g.L<sup>-1</sup>) 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).

### 3.3 Microalgas

As microalgas são referidas como microrganismos unicelulares ou multicelulares que podem ser encontrados em abundância, na presença de umidade em todo o mundo. Estudos anteriores indicaram que as fontes de cultivo de microalgas favoráveis podem ser água doce, água salgada ou águas residuais. Ao longo das últimas décadas, as microalgas têm incentivado a atenção substancial para a produção de biocombustíveis devido ao seu alto teor de carboidratos celulares, lipídios e proteínas (HOSSAIN et al., 2019).

Microalgas são um grupo heterogêneo de organismos que não tem a mesma filogenética com requisitos mínimos de nutrientes, permitindo-lhes prosperar em quase todos os ambientes. São contabilizadas mais de 50.000 espécies que vivem em ambientes diversos de rochas, no solo, água doce, água salobra, no mar e águas residuais (RASHID et al., 2014; BONETT et al., 2020). O tamanho das microalgas pode variar de menos de um micrômetro a algumas centenas de micrômetros; elas podem ser um procariótico (por exemplo, as cianobactérias) ou uma célula eucariótica e ocorrem em formas unicelulares ou colonial. Devido aos seus requisitos simples de nutrientes e características mixotrófico, as microalgas também são usadas em fixação de CO<sub>2</sub> e tratamento de águas residuais para transformar os nutrientes restantes em biomassa e outros compostos bioativos (BONETTI et al, 2020; HUANG et al., 2017; VU et al., 2018).

No geral, eles são um recurso promissor para uma ampla gama de aplicações de produtos devido ao seu potencial biotecnológico, principalmente no que diz respeito ao seu conteúdo celular (carboidratos, clorofila, lipídios e proteínas), como nutracêutica, farmacêuticos, produtos químicos, bioenergia e aquicultura (BEHARA et al., 2019; BONETT et al., 2020; CUELLAR-BEMRUDEZ et al., 2017; VU et al., 2018).

#### 3.3.1 Características biológicas - fatores ambientais e nutricionais

Vários fatores como parâmetros ambientais e nutricionais afetam a taxa de absorção de nutrientes das microalgas, incluindo concentração inicial de nutrientes, intensidade de luz, pH, temperatura e densidade de inoculação. Entre esses parâmetros a concentração de nutrientes e a intensidade luminosa têm impactos diretos na remoção de nutrientes, enquanto outros

parâmetros o afetam indiretamente, mas importantemente necessários para um bom balanço metabólico e sobrevivência das espécies (DANG et al., 2012; CAI et al. 2013; MASOJÍDEK; TORZILLO, 2008).

A temperatura é um fator sensível (principal fator ambiental aliado ao pH) para o crescimento e a atividade metabólica das microalgas, sendo realizados por dois mecanismos: taxa dependente da temperatura para as reações químicas e bioquímicas e a dependência para fixar o carbono da fotossíntese em vários tipos de macromoléculas. Enquanto isso, também é um fator de fácil controle na operação prática do cultivo de microalgas (HU, 2013; SONMEZ et al., 2016). A faixa ótima para o desenvolvimento das microalgas varia de acordo com a espécie, algumas cepas de microalgas toleram uma ampla faixa de temperatura entre 15 e 35 °C (por exemplo a *Chlorella* e *Spirulina*), enquanto *Haematococcus* requer uma regulação mais rigorosa entre 25 e 27 °C (MASODJEK; TORZILLO, 2008). Um dos temas mais estudados em relação a temperatura é o efeito dela na composição da membrana e o conteúdo lipídico, pois uma diminuição do ponto ótimo diminui o total de lipídios, mas aumenta o grau de insaturação de lipídios na membrana (XIN; HONG-YING; YU-PING, 2011; HOSSAIN et al., 2019; HU, 2013).

O pH desempenha um papel importante em muitos processos celulares, incluindo metabolismo energético, organelas, enzimas e estrutura e função de proteínas. Para a maioria das algas, a faixa de pH do meio é 7 - 9. O pH extremo pode causar a quebra de muitos processos celulares e levar à ruptura celular (CAUTTEAU, 1996). As concentrações de nutrientes podem ser afetadas pelo pH, ele quando está elevado, aumenta a concentração de amônia livre que prejudicam a fotossíntese das algas e suprimem o crescimento das algas e pode fazer com que o fósforo precipite na forma de fosfato de cálcio (ABELIOVICH; AZOV, 1976; CAI et al., 2013). Outros fatores como a atividade das células das algas, como o consumo de CO<sub>2</sub> e a absorção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, também podem causar flutuações de pH. O consumo de CO<sub>2</sub> dissolvido pelo processo fotossintético é conhecido por aumentar a concentração de OH<sup>-</sup> e aumentar a absorção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> pelas microalgas durante a liberação de H<sup>+</sup> (OKABE et al., 2011).

Em relação às características nutricionais, as microalgas podem ser cultivadas tanto fotoautotroficamente, quanto heterotroficamente, fotoheterotroficamente ou mixotroficamente, possuindo uma plasticidade bioquímica considerável pois é possível obter uma biomassa rica em proteínas ou lipídios ou carboidratos, alcançando um máximo de cada componente em torno de 60 – 70 % (CHEN et al., 2011; BELLOU et al., 2014). No entanto, o teor de lipídios, carboidratos e proteínas não é o único fator que determina a produtividade microalgal, pois a

produção de biomassa também é um fator significativo e esses dois fatores devem estar atrelados (HARWATI et al. 2012).

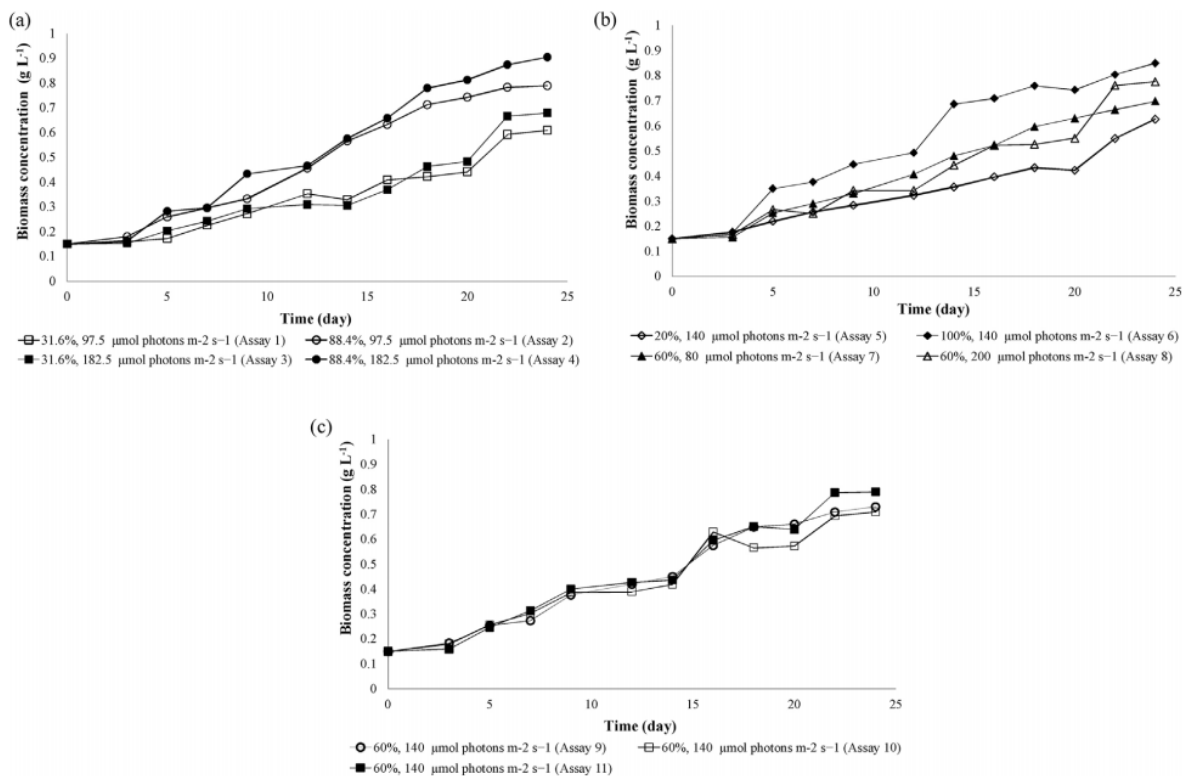
Os principais nutrientes para o cultivo das microalgas são: a luz, fonte de carbono, nitrogênio e fósforo e alguns micronutrientes. O nitrogênio está envolvido na produção de aminoácidos, proteínas e clorofila, enquanto o fósforo é usado para transferência de energia, fotossíntese e formação de ácidos nucleicos. É importante o fornecimento ao meio de cultura de luz, carbono, N, P e traços de metais. No entanto, a adição de sais inorgânicos (fertilizantes) não representa uma opção econômica ou ambientalmente sustentável (CUELLAR-BEMRUDEZ et al., 2017; HOH et al., 2016).

A luminosidade desempenha um papel fundamental na produtividade das microalgas uma vez que fornece a energia necessária para as reações fotossintéticas, promovendo a conversão dos nutrientes inorgânicos dissolvidos no meio da biomassa orgânica. O excesso de luz pode causar efeito letal nas células pela formação de peróxido de hidrogênio na presença de oxigênio devido a reações de foto-oxidação. As microalgas requerem uma quantidade ideal de luz para atingir economicamente a taxa fotossintética máxima e a eficiência de remoção de nutrientes (GONZÁLEZ-CAMEJO et al., 2019; DA FONTOURA et al., 2017).

A luz é um parâmetro essencial no cultivo de microalgas, fatores como: a intensidade, a frequência e os fotoperíodos da luz influenciam a produtividade e eficiência da remoção de nutrientes. Havendo como consequência uma proporcionalidade entre o crescimento e a intensidade da luz até atingir o ponto ótimo com atividade fotossintética máxima. A **Figura 2** mostra o comportamento do crescimento da *Scenedesmus sp.* variando a concentração do efluente e intensidade da luz (DA FONTOURA et al., 2017).

A mixotrofia das microalgas ocorre quando elas realizam a fotossíntese como principal fonte de energia e utilizam tanto o carbono inorgânico ( $\text{CO}_2$ ) como os compostos orgânicos dissolvidos (DCO) como fontes de carbono para seu crescimento. O carbono inorgânico pode ser utilizado na forma de carbonatos solúveis ( $\text{HCO}_3^-$ ) por ingestão direta ou através da conversão de carbonatos em  $\text{CO}_2$  livre através da atividade carbono-anidrase. Além disso, algumas microalgas absorvem  $\text{HCO}_3^-$  do  $\text{CO}_2$  que é formado devido ao mecanismo respiratório das bactérias presentes em sistemas abertos. Espécies de microalgas que são adequadas para crescer em cultivo mixotrófico podem viver em condições autotróficas, heterotróficas ou em ambas, dependendo da concentração de compostos orgânicos e da intensidade de luz disponível (CAI et al., 2013; CHEW et al., 2018; GIRARD et al., 2014; UMAMAHESWARI et al., 2016).

**Figura 2** - Curvas de crescimento de biomassa para *Scenedesmus* sp. ao longo do tempo para os ensaios: (a) concentração de efluentes de curtume de 31,6 e 88,4 % e intensidade de luz de 97,5 e 182,5  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , (b) concentração de efluentes de curtume de 20, 60 e 100 % e intensidade de luz de 80, 140 e 200  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , (c) concentração de efluentes de curtume de 60 % e intensidade de luz de 140  $\mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (triplicata).



Fonte: Adaptado de DA FONTOURA (2017).

Uma maneira de diminuir o fornecimento de N e P é acoplado o cultivo de microalgas ao tratamento de águas residuais. Pois as águas residuais são uma fonte rica desses nutrientes que precisam ser removidos das águas residuais, devido a possibilidade de causar eutrofização dos corpos d'água, particularmente lagos, reservatórios, estuários e partes do oceano (SMITH et al., 2006). Os tratamentos tradicionais de águas residuais consomem muita energia. Além disso, os tratamentos aeróbicos e anaeróbicos convencionais, na maioria das vezes, não removem a quantidade de f\u00f3sforo do efluente de modo eficiente (CUELLAR-BEMRUDEZ et al., 2017).

### 3.3.2 Microalgas no tratamento de efluentes

As microalgas e cianobact\u00e9rias tem uma boa efici\u00eancia para a fixa\u00e7\u00e3o de CO<sub>2</sub> que \u00e9 a das plantas. A biofixa\u00e7\u00e3o biol\u00f3gica de CO<sub>2</sub> por microalgas combinada com processos como o

tratamento de resíduos orgânicos fornece resultados vantajosos em termos de viabilidade econômica e sustentabilidade ambiental. As microalgas podem ser cultivadas em efluentes orgânicos rico em nutrientes, água salgada e salobra diminuindo o uso de terra fértil e de água potável doce (RAZZAK et al., 2017)

Devido à capacidade das microalgas de usar nitrogênio e fósforo em águas residuais para o seu crescimento, elas são muito úteis para a redução das concentrações destes nas águas residuais. Métodos que usam remediação de microalgas são ambientalmente sustentáveis porque não geram resíduos adicionais, como lodo, mas oferecem oportunidades para reciclagem eficiente de nutrientes e produção sustentável de biocombustíveis (CHOI et al., 2016).

Culturas de microalgas de águas residuais podem contribuir significativamente para o gerenciamento dos ecossistemas aquáticos, fornecendo um sistema de baixo custo e ecologicamente correto para o tratamento de águas residuais. O uso de efluentes de laticínios para culturas de microalgas é benéfico para minimizar o uso de água doce, reduzindo o custo da adição de nutrientes, removendo o nitrogênio e fósforo restantes e produzindo biomassa de microalgas como biorecursos de biocombustível ou subprodutos de alto valor agregado (KUMAR et al., 2015; KOTHARI et al., 2012; LU et al., 2015).

Atualmente há muitas pesquisas sobre a ficorremediação que se referem ao tratamento de águas residuais por macro e microalgas para a remoção de poluentes orgânicos e/ou inorgânicos (CUELLAR-BEMRUDEZ et al., 2017).

Evans et al. (2017) avaliou o desempenho de um processo de tratamento de microalgas para efluentes. A água residual decantada em tanque primário foi enriquecida com glicose ( $< 300 \text{ mg L}^{-1}$ ) como uma fonte de carbono orgânico e utilizou-se a microalga mixotrófica *Chlorella vulgaris*. A caracterização do efluente revelou reduções significativas em  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  (de 28,9 para  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ ) e  $\text{PO}_4\text{-P}$  (de 3,2 a  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ ) em apenas 2 dias. A glicose exógena foi completamente removida das águas residuais após o primeiro dia. A eficiência do processo de tratamento de microalgas na redução de  $\text{NH}_4^{3+}\text{-N}$  e  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  foi consistente em tanque primário enriquecido com carbono orgânico, resultando em  $> 90 \%$  de redução dos compostos inorgânicos em cada lote.

Francisi et al. (2017) avaliou a viabilidade da produção de microalgas no tratamento de efluentes em processo contínuo com a *Chlorella sorokiniana* em fotobiorreatores de tela plana em escala laboratorial. A produtividade da biomassa foi determinada para quatro taxas de diluição ( $4,32 \text{ d}^{-1}$ ,  $3,6 \text{ d}^{-1}$ ,  $1,8 \text{ d}^{-1}$  e  $0,72 \text{ d}^{-1}$ ). O pico de produtividade foi de  $1,524 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  na taxa de diluição de  $2,41 \text{ d}^{-1}$ . As remoções de nitrogênio e fósforo foram inversamente

proporcionais às taxas de diluição, enquanto a remoção de DQO foi de 50 % em todas as condições testadas.

Pereira et al. (2018) estudaram cepas de microalgas indígenas que crescem com bactérias nativas e são aplicáveis para a produção de biomassa e tratamento terciário de águas residuais em modo de crescimento contínuo. Cinco cepas de *Chlorophyta* foram isoladas e cultivadas em lote. O isolado *Chlorella* sp. L06 foi selecionada e avaliada com base em cinco taxas de diluição de 0,1 a 0,5 d<sup>-1</sup> no reator de crescimento contínuo usando efluente secundário não esterilizado como meio de cultura. Produtividade volumétrica máxima de biomassa de 283 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> foi alcançado em 0,3 d<sup>-1</sup> sem adição de CO<sub>2</sub> ou borbulhamento de ar. As maiores taxas de remoção de nitrogênio e fósforo totais da fase líquida foram 13,0 e 1,4 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectivamente, e foram obtidos em 0,4 dia<sup>-1</sup>.

### 3.3.3 Gênero *Tetradismus*

*Tetradismus obliquus* é uma microalga verde (nome anterior = *Scenedesmus acutus* e *Acutodesmus obliquus*) (WYNNE E HALLAN, 2015). Este grupo de microalgas (Chlorophyceae, Scenedesmaceae) podem ser utilizadas para a remoção de nutrientes poluentes dos rios e uma fonte de produção de uma enorme variedade de produtos bioativos com potencial valor comercial, como lipídios, carboidratos, proteínas, vitaminas, aminoácidos e beta-caroteno que são usados como matéria-prima para produção de energia, aditivos para rações, alimentos, cosméticos e medicamentos (ISHAQ et al. 2016; ESCAPA et al., 2016).

Escapa et al. (2016) em seu trabalho teve como objetivo avaliar e comparar a eficiência de remoção de paracetamol e ácido salicílico (concentração inicial de 25 mg L<sup>-1</sup>) de meio aquoso por um tratamento à base de microalgas, utilizando *Chlorella vulgaris* ou *Tetradismus obliquus*. A remoção de paracetamol por *T. obliquus* (> 40 %) foi maior do que por *C. vulgaris* (>21%) em cultura em lote, e isso também foi observado para ácido salicílico (> 93 % por *T. obliquus* e > 25 % por *C. vulgaris*). Ambas as linhagens removeram quase completamente os nutrientes (fosfato e nitrato) ao final da cultura descontínua, mas *T. obliquus* apresentou a maior eficiência nas condições de estado estacionário da cultura semicontínua.

Ferreira et al. (2018) avalia a capacidade da *Scenedesmus obliquus* em remover nutrientes de diferentes águas residuais (aves, suínos, cervejarias, indústrias de laticínios e urbanas) com faixas de remoção de 95 – 100 % para nitrogênio, 63 – 99 % para fósforo e 48 – 70 % para a DQO (concentrações iniciais: DQO 0,008 - 14,2 g O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; N-NH<sub>3</sub> 11 - 2472,4 mg N L<sup>-1</sup>; PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 14,3 - 23,5 mg P L<sup>-1</sup>). A produtividade de biomassa foi maior em efluentes de



cervejaria ( $1025 \text{ mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ). A biomassa produzida continha 31 – 53 % de proteínas, 12 – 36 % de açúcares e 8 – 23 % de lipídios, independentemente do tipo de efluente.

Wang et al. (2020) estudaram as espécies de microalgas *Tetradesmus dimorphus* GEEL-04 e *Desmodesmus asymmetricus* GEEL-05 que foram avaliadas quanto à cinética de crescimento, eficiência de remoção de nutrientes e composição da biomassa total. *T. dimorphus* apresentou maior crescimento ( $1,46 \text{ OD}_{680\text{nm}}$ ) em comparação com *D. asymmetricus* ( $1,16 \text{ OD}_{680\text{nm}}$ ), e ambos apresentaram 99 % de remoção total de nitrogênio e fósforo total (concentração inicial: NT 18 e 29  $\text{mg L}^{-1}$ ; TP 5,6 e 9,6  $\text{mg L}^{-1}$ ; DQO 209,2 e 55,9  $\text{mg L}^{-1}$  respectivamente dos locais Springs Park e Yang Tang Park – Lanzhou província de Gansu na China). *T. dimorphus* e *D. asymmetricus* acumularam maior teor de proteínas (40,02 e 45,10 %), carboidratos (31,91 e 24,64 %) e lipídios (15,41 e 24,16 %), respectivamente. A análise elementar da biomassa de microalgas mostrou alto teor de carbono 50,13 % e 43,01 % para *T. dimorphus* e *D. assimétrico*, respectivamente.

Liu et al. (2021) teve como objetivo avaliar o crescimento e a melhoria da produtividade lipídica de *Scenedesmus obliquus* por meio de cultivo mixotrófico, via adição de acetato de sódio em águas residuais municipais como também verificar a eficiência de remoção de nutrientes dos meios de cultura em termos de carbono, nitrogênio e fósforo. Os resultados mostraram que o *S. obliquus* cresceu melhor nas águas residuais do que no meio BG11 ( $0,20 \text{ g L}^{-1}$  e  $0,16 \text{ g L}^{-1}$  em peso celular seco), e a produtividade final de lipídios de algas foi maior ( $9,02 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  e  $7,75 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ). Além disso, a adição de NaAc de  $1 \text{ g L}^{-1}$  aumentou significativamente a eficiência de remoção e produção, onde o peso da célula seca de algas ( $0,48 \text{ mg L}^{-1}$  vs  $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ ), e a produtividade de lipídios ( $22,08 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  vs  $9,02 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ,  $P < 0,01$ ). Enquanto isso, para a remoção de nitrogênio e fósforo acionado por microalgas, respectivamente (82,20 % vs 46,85 % para nitrogênio total e 76,35 % vs 34,18 % para fósforo total). Em resumo, este estudo confirmou a viabilidade do uso de águas residuais suplementado com carbono orgânico para substituir o meio artificial para produção de lipídios à base de microalgas e reciclagem de nutrientes.

### 3.3.4 Microalgas no tratamento do soro do leite

Muitos pesquisadores têm usado várias microalgas para o tratamento de águas residuais de laticínios, a fim de obter o tratamento das águas residuais desse setor e a produção de biomassa elas são úteis para a redução das concentrações de nitrogênio e fósforo nas águas

residuais contribuindo para o gerenciamento dos ecossistemas aquáticos, fornecendo um sistema barato e ecologicamente correto para o tratamento de águas residuais (CHOI, 2016).

Tsolcha et al. (2016) teve como objetivo desenvolver um sistema de tratamento biológico de efluentes de soro de queijo secundário na produção de biodiesel e remoção de nutrientes poluentes e DQO. O soro foi tratado aerobiamente diluído e utilizado como substrato para o crescimento de algas tipo *Choricitisis* em condições fotoheterotróficas. Ao final do tratamento, a carga poluente de DQO, NT (Nitrogênio Total) e  $\text{PO}_4^{3-}$  (Fosfato Total) (concentrações iniciais DQO 1100 - 7295  $\text{mg L}^{-1}$ ;  $\text{NO}_3^-$  3,8 - 22,8  $\text{mg L}^{-1}$ ; NT 32,9 - 102,5  $\text{mg L}^{-1}$ ; 1,2 - 44,8  $\text{PO}_4^{3-}$ ) foi reduzida em até 92,3 %, 97,3 % e 99,7 %, respectivamente. O teor de lipídios da biomassa algal variou de 9,2 a 13,4 %, o que correspondeu a uma produção de óleo de 60,8 – 119,5  $\text{mg L}^{-1}$ .

Pires et al. (2021) avaliaram o tratamento de efluentes de laticínios (como soro de queijo) utilizando *Chlorella vulgaris* e utilizando diversas concentrações de soro de queijo coagulado e não coagulado (concentrações iniciais de CT (carbono total) 19,34 e 43,26  $\text{g L}^{-1}$ ; NT 848 e 2016  $\text{g L}^{-1}$ ; PT (fósforo total) 105,06 e 221,75  $\text{g L}^{-1}$ ; DQO 42,47 e 49,47  $\text{mg L}^{-1}$  respectivamente) e diferentes concentrações de inóculo (0,1, 0,2, 0,4 e 1,0  $\text{g L}^{-1}$ ). O efluente final contendo soro de queijo coagulado apresentou menores teores de produtos residuais em comparação ao soro de queijo não coagulado. Incrementos no tamanho do inóculo levaram a melhores resultados. Nos ensaios com 0,2, 0,4 e 1,0  $\text{g L}^{-1}$  de inóculo foram removidos 54, 56 e 41 % de CT, 71, 49 e 40 % de NT e 16, 31 e 46 % de PT, respectivamente.

Bonett et al. (2020) em seu trabalho isolou microalgas de água doce de diferentes locais sendo identificadas e avaliadas quanto à sua capacidade de crescer em autotrofia, heterotrofia ou mixotrofia. Elas foram cultivadas em soro de queijo sob condições controladas e a linhagem mais eficiente em condições ambientais. Sete microalgas foram isoladas correspondendo aos gêneros *Chlorella* sp., *C. sorokiniana* e *Desmodesmus* sp. Todos os isolados apresentaram maior crescimento em mixotrofia do que em autotrofia ou heterotrofia. *Desmodesmus* sp. L2B, *Chlorella* sp. L2A e *Chlorella* sp. L1A foram escolhidas para serem cultivadas em soro de queijo sob condições controladas. *Desmodesmus* sp. L2B apresentou a maior produção de biomassa. O cultivo em soro de queijo em condições ambientais permitiu a produção de 0,50  $\mu\text{g/mL}$  de carotenóides, 0,42  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de clorofila a, 1,22  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de clorofila b, 2,2  $\text{g L}^{-1}$  de carboidratos, 2,37  $\text{g L}^{-1}$  de lipídios e 9,97  $\text{g L}^{-1}$  de biomassa.

Bentahar et al. (2019) teve como objetivo a utilização do permeado ácido do soro para a produção de biomassa de microalgas *Tetradismus obliquus* e de enzima  $\beta$ -galactosidase. Os

resultados mostraram que a produção de biomassa e enzimas aumentaram com o aumento da quantidade de permeado de soro utilizado na formulação do meio, mas não de forma linear. Esse comportamento observado na concentração de sais minerais. Concentrações de biomassa de até  $5 \text{ g L}^{-1}$  foram obtidas e atividades volumétricas de enzimas de até  $400 \text{ U L}^{-1}$ . Sob as melhores condições de utilização de nutrientes, experimentos com frascos de agitação e fotobiorreatores mostram produtividades ótimas de  $14,60 \text{ U L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  e  $16,26 \text{ U L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , respectivamente, após 5 e 7 dias de cultura.

### 3.4. Sistemas de cultivo utilizados pelas microalgas no tratamento de efluentes

O cultivo de microalgas tem sido realizado em todo o mundo com o objetivo de produzir ração animal ou produtos de alto valor agregado, como cosméticos, fármacos e suplementos sanitários. Mais recentemente, as microalgas também têm sido usadas para tratamento de águas residuais, mitigação de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) ou como matéria-prima para a produção de biocombustíveis. Esses microrganismos fotossintéticos podem ser cultivados em lagoas abertas ou fotobiorreatores fechados (PBR) usando  $\text{CO}_2$  e luz como fontes de carbono e energia, respectivamente (ABREU et al., 2012).

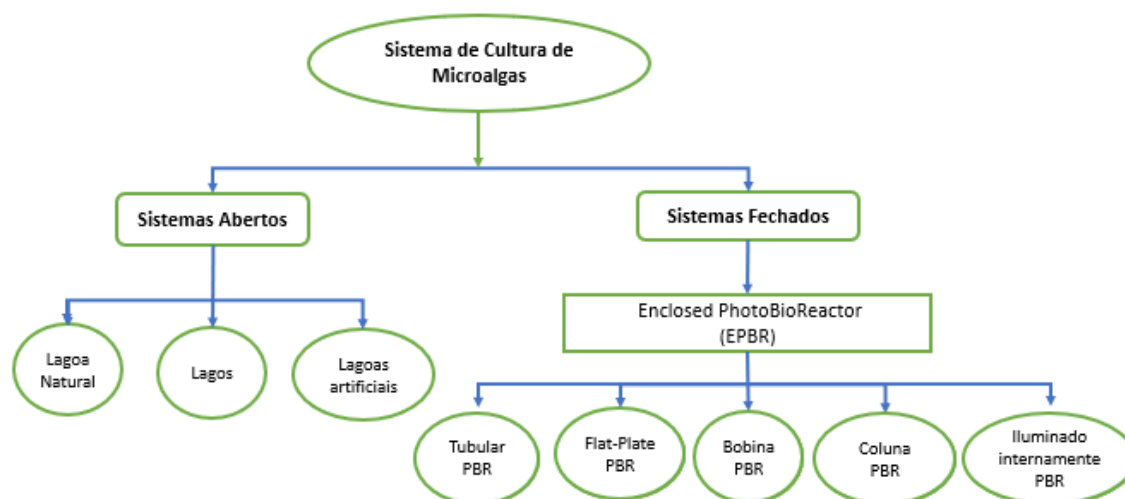
O cultivo pode ser realizado de várias formas, o sistema pode ser aberto ou fechado, o processo pode ser em batelada, semicontínuo ou contínuo. Além disso, existem diferentes tipos de modos de crescimento disponíveis para microalgas tais como crescimentos fotoautotróficos, heterotróficos ou mixotróficos (CHEW et al., 2018; YIN et al., 2020).

#### 3.4.1 Sistemas aberto e fechado

As microalgas são microrganismo fotossintéticos que podem ser cultivadas por dois tipos de sistema: em sistemas de cultivo abertos, como lagoas abertas, lagoas de canaleta e tanques. O outro tipo de cultivo de microalgas é o sistema fechado o qual é mais fácil de controlar, os fotobiorreatores (**Figura 3**). O conteúdo celular das microalgas é altamente dependente do método de cultivo, pois cada uma delas fornece diferentes quantidades de nutrientes e energia. Além disso, o método de cultivo desempenha um importante papel na produtividade das microalgas. Pois diferentes métodos possuem características diferentes como agitação, exposição a luz solar, dimensões, profundidade, entre outros fatores. Em alguns casos, o cultivo do microalgas em lagoas abertas levam a uma maior produção de biomassa quando se

compara ao crescimento em fotobiorreatores (ABREU et al., 2012; BAHMAN et al., 2020; CHEW et al., 2018).

**Figura 3** - Esquemática dos sistemas de cultura das microalgas.



Fonte: Adaptado de UMAMAHESWARE et al. (2016).

O cultivo de microalgas em lagoas abertas tem sido extensivamente estudado na última década. As lagoas abertas podem ser categorizadas em águas naturais (lagos, lagoas) com profundidades menores de 0,30 m para permeabilidade da luz com ou sem agitação e lagoas artificiais ou tanques podendo ser agitados. Tecnologias recentes empregam lagoas e lagoas oxidativas para biorremediação de efluentes municipais e industriais que são ricos em nutrientes e podem atuar como meio de cultura para várias espécies de algas. A falta de controle das condições climáticas e a contaminação por predadores dificultam sua operação com a mesma produtividade durante todo o ano (BRENNAN e OWENDE, 2010; UMAMAHESWARI et al., 2016). Para enfrentar esses problemas, são projetados lagos *raceway*, de maneira semelhante ao ambiente natural das microalgas, os fatores considerados na construção dessas lagoas são a biologia da microalga, custo da terra, nutrientes, energia, clima e o tipo de produto final. Neste tipo de lago a mistura é feita através de pás para garantir que as células de microalgas sejam suspensas e reduzindo o tempo de residência no escuro (MATA et al., 2010; PAWAR, 2016; UMAMAHESWARI et al., 2016; CHEW et al., 2018).

Uma das vantagens de tanques abertos são que sua construção e operação são fáceis em comparação com o fotobiorreator. A demanda de energia primária para o cultivo de microalgas em o fotobiorreator é 3,7 vezes maior do que a lagoa; enquanto a captura líquida de CO<sub>2</sub> na

lagoa de canal aberto é maior do que fotobiorreator. De acordo com a literatura, não há relatórios sobre o efeito do tipo e intensidade de luz na remoção de N e P pela *Spirulina* em sistemas de lagoas abertas. A taxa de remoção de nitrogênio amoniacal pode ser maior em sistema aberto que em fechado (BAHMAN et al., 2020; UMAMAHESWARI et al., 2016).

Embora os sistemas fechados sejam mais eficientes devido ao melhor controle do processo, maiores produtividades de biomassa e riscos reduzidos de contaminação, os sistemas abertos, ainda são uma escolha preferível, especialmente em larga escala. O cultivo de microalgas ao ar livre é influenciado por vários fatores, principalmente estirpe de microalgas, irradiância solar, temperatura, disponibilidade de nutrientes, umidade, clima local e velocidade do vento e níveis de CO<sub>2</sub> (YADAV; SEN, 2017). Para enfrentar os desafios associados ao cultivo de microalgas ao ar livre em grande escala, como baixa produtividade de biomassa e aumento de custos, os sistemas de cultivo semicontínuos superam os sistemas convencionais em batelada e/ou contínuos. Isso ocorre porque as culturas em batelada são flexíveis e simples de operar, mas carecem da eficiência no processo dos contínuos, como maior produtividade e taxas de remoção, mas são difíceis de controlar. Culturas semicontínuas parecem ser a escolha mais adequada para cultivo em larga escala devido à sua simplicidade e facilidade de implementação para qualquer tipo de cultura baseando-se em uma operação similar à batelada e operada em termos da reposição volumétrica em tempos pré-determinados (TAN et al., 2018).

### **3.4.2 Cultura autotrófica, heterotrófica ou mixotrófica**

As microalgas podem assumir várias vias de metabolismo, incluindo autotrófico, heterotrófico e mixotrófico. A cultura autotrófica refere-se ao processo de cultivo, no qual as microalgas convertem diretamente o carbono inorgânico em matéria orgânica através do processo de fotossíntese. O modo de crescimento mais comum para o cultivo de microalgas é o crescimento autotrófico, uma vez que todas as microalgas são fotossintéticas. Muitas espécies de microalgas são conversores eficazes de energia solar, uma vez que células de algas captam energia luminosa e usam CO<sub>2</sub> como fonte de carbono. Neste modelo de cultivo, as microalgas podem usar a luz solar para adsorver gases residuais industriais e CO<sub>2</sub> na atmosfera, diminuindo assim a poluição ambiental até certo ponto. Portanto, é considerada a forma mais ecológica e econômica para o crescimento de microalgas, no entanto, este modo de cultura, conhecido como fotoautotrófico, apresenta várias desvantagens, incluindo baixa densidade celular e longos períodos de cultivo (ABREU et al., 2012; PEREZ-GARCIA et al., 2011; ZHU, 2015).

O cultivo heterotrófico refere-se ao processo no qual as microalgas utilizam carbono orgânico para crescimento e reprodução, e o processo não requer energia luminosa. Esse cultivo é semelhante ao autotrófico, com a única exceção da adição de carbono orgânico. Mixotrófico envolvem os processos autotróficos e heterotróficos. O modo de crescimento mixotrófico é uma variante do modo de crescimento heterotrófico, no qual o CO<sub>2</sub> e o carbono orgânico são assimilados simultaneamente pelo metabolismo respiratório e fotossintético, essas vias são priorizadas dependendo da concentração de compostos orgânicos e da intensidade de luz disponível (CHEW et al., 2018; PEREZ-GARCIA et al., 2011).

O processo heterotrófico e mixotrófico apresentam crescimento rápido com alta taxa de produção em comparação ao processo autotrófico. O estudo de Song e Pei (2018) demonstrou que o crescimento e o acúmulo de lipídios de *Scenedesmus quadricauda* aumentaram em 35,8 e 9,2 vezes durante o processo mixotrófico e heterotrófico em comparação com a batelada, respectivamente.

Apesar do cultivo mixotrófico de microalgas fornecer uma maior produtividade de biomassa e lipídios se comparado às condições fotoautotróficas, o custo do substrato de carbono orgânico é estimado em cerca de 80 % do custo total do meio de cultivo. Como resultado, fontes orgânicas menos dispendiosas devem ser encontradas para superar o alto custo do carbono resultante das condições de cultura mixotrófica. A redução de custos de preparação de meio de crescimento com o mínimo de efeitos indesejáveis é crucial para uma aplicação comercial potencial (ABREU et al., 2012).

### 3.4.3 Processo semicontínuo

Existem diferentes modos de cultivo de microalgas, incluindo processos em batelada, semicontínuos e contínuos. A cultura em batelada de microalgas é uma tecnologia madura e tem sido utilizada em muitas espécies de microalgas de água doce a ambientes marinhos, como *Chlorella zofingiensis*, *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus sp.* (ZHU, 2015). O principal desafio nas culturas em batelada é a incapacidade de manter a irradiância e os níveis de nutrientes constantes, devido à absorção de nutrientes e ao autosombreamento celular causado pela mudança contínua das densidades celulares, levando a uma baixa produtividade de biomassa (ZHU et al., 2013a). Muitos estudos relataram que o semicontínuo ou o cultivo contínuo tem sido utilizado no processo de crescimento de microalgas para produção de biodiesel (KASPAR et al., 2014; ZHU et al., 2013b). Quanto à cultura semicontínua, a biomassa é colhida de forma intermitente complementando o meio de cultura fresco. Em contraste, durante a produção

contínua de microalgas, os nutrientes serão separados continuamente e o meio nutritivo será adicionado simultaneamente.

Solís-Salina et al. (2021) em sua pesquisa investigaram um consórcio misto das microalgas *Geitlerinema sp.*, *Coellastrella sp* e *Scenedesmus sp* cultivadas em efluente doméstico de baixa carga utilizando um fotobiorreator em regime semi-contínuo para a produção de biomassa com tempo de retenção hidráulico (TRH) de 10, 8 e 6 dias e com uma reposição volumétrica diária de respectivamente 10, 12,5 e 15 % para esses TRH por um período de 30 dias. Particularmente, o acúmulo de carboidratos foi mais influenciado pelo desequilíbrio nas relações N:P do que pelo completo consumo dos nutrientes (Concentração Inicial de DQO, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e Fosfato foram respectivamente 246 mg L<sup>-1</sup>, 52,5 mg L<sup>-1</sup>, 1,7 mg L<sup>-1</sup> e 5,0 mg L<sup>-1</sup>). Assim, durante no período operado em TRH de 10, 8 e 6 dias obteve-se altas eficiências de remoção de nutrientes, aumentando gradativamente teor de carboidratos até 57, 46 e 51 % em peso celular seco respectivamente. Este estudo demonstrou que microalgas adaptadas a baixas cargas de carbono e nutrientes ainda podem acumular alto teor de carboidratos em TRH mais curto usando águas residuais domésticas como substrato.

Kong et al. (2020) estudaram os efeitos de diferentes íons metálicos (Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> e Fe<sup>3+</sup>) no crescimento, acúmulo de lipídios e sedimentação de *Scenedesmus sp.* no meio de ácidos graxos (Concentração Inicial de DQO 3750 mg L<sup>-1</sup>, NT 142,0 mg L<sup>-1</sup>, FT 113,2 mg L<sup>-1</sup>) em efluente de digestão anaeróbica. No processo em batelada o Mg<sup>2+</sup> e o Fe<sup>3+</sup> mostraram-se mais eficazes e a concentração de biomassa de 1,02 ± 0,6 g L<sup>-1</sup>, teor de lipídios de 31,7 ± 1,7 % e eficiência de sedimentação de 91,2 ± 2,5 % foram obtidos a 45 µM de Fe<sup>3+</sup>. A adição de Al<sup>3+</sup> pode aumentar a eficiência de sedimentação, ao mesmo tempo em que tem efeito inibitório sobre a produção de biomassa e lipídios. O processo no reator semicontínuo foi estável e eficiente, e mais de 96 % dos ácidos graxos voláteis no efluente puderam ser removidos. A concentração lipídica média e a eficiência de sedimentação no modo semicontínuo atingiram 0,39 g L<sup>-1</sup> e 92,7 %, respectivamente.

Eustance et al. (2016) em sua pesquisa fizeram uma comparação entre o fotobiorreator de tela plana ao ar livre e a lagoa de pista aberta em cultivo semi-contínuo. Utilizando as linhagens de *Scenedesmus acutus* (cepas LB 0414 e LB 0424) para avaliar a produtividade, densidade de área, remoção de nutrientes e volume de colheita em sistemas de cultivo e linhagens de algas. Os fotobiorreatores e as lagoas mostraram uma produtividade média de biomassa respectivamente de 19,0 ± 0,6 g m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> e 6,62 ± 2,3 g m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup>, a eficiência fotossintética 1,32 - 2,24 % e 0,30 - 0,68 %, taxa média de consumo de nitrogênio de 38,4 ±

8,6 mg N L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, 7,1 ± 4,2 mg N L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. Excesso de nutrientes foram necessários para evitar uma diminuição na produtividade. Volumes diários de colheita de biomassa entre 18 e 36 % dos painéis não afetaram a produtividade da cultura, mas a densidade diminuiu com o aumento do volume de colheita. Altas temperaturas de cultivo, acima de 30 °C, causaram a cepa LB 0414 a ruptura e quebra. A cepa LB 0424 não apresentou diferença na produtividade de biomassa quando as temperaturas de pico atingiram 34, 38 ou 42 °C, mas apresentou diminuição na produtividade quando a temperatura de pico durante o cultivo foi de 30 °C. O uso de cepas de algas com diferentes tolerâncias de temperatura pode gerar maior produtividade anual de biomassa.

Ruiz-Marin et al. (2010) estudaram o crescimento de algas em culturas em batelada e semicontínuas, e os resultados mostraram que o modo semicontínuo foi melhor que as culturas descontínuas. Portanto, o cultivo semicontínuo e contínuo apresenta maior taxa de crescimento na produção de microalgas e são amplamente utilizados na prática. No entanto, o modo semicontínuo e contínuo também enfrentam alguns problemas que precisam ser resolvidos, como o alto investimento para operação e estabilidade incerta para desempenhos de operação de prazo único. Portanto, é necessário desenvolver uma forma de cultivo adequada para o crescimento de diferentes espécies de microalgas otimizando os parâmetros de funcionamento.

#### **3.4.4 Taxa de reposição volumétrica, tempo de realimentação e tempo de retenção hidráulico (TRH) (*HRT – Hydraulic retention time*) em um processo semicontínuo**

O tempo de retenção hidráulico (TRH) ou do inglês, *Hydraulic retention time* (HRT) é o tempo necessário que um determinado volume útil de processo permanece dentro do reator durante um processo fermentativo (DEOWAN et al., 2015).

Como a remoção volumétrica é feito em intervalos de tempo fixos no processo semicontínuo, parte do volume do mosto permanece no sistema e deve ser contabilizado para efeitos do TRH.

A taxa de reposição/remoção volumétrica (TRV) é calculada como:

$$TRV (\%) = \frac{V_{Removido}}{V_{Reator}} \cdot 100 \quad (1)$$



O tempo de realimentação (TR) (em unidade de tempo, geralmente em dias), é o tempo no qual a taxa de reposição/remoção volumétrica é aplicada, em intervalos regulares durante o processo.

Por outro lado, o TRH, pode ser calculado por:

$$TRH \text{ (dias)} = TR \cdot \frac{100}{TRV} \quad (2)$$

Na literatura há uma confusão entre o uso desses dois termos, TR e TRH, não os apresentando ou apresentando apenas o TRH, e explicando como se eles fossem a mesma coisa.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Coleta e armazenagem do soro do leite e microalga

O soro do leite utilizado 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. O qual foi armazenado sob congelamento de (-12 a -18 °C) no Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos (LTBA) e Laboratório de Bioprocessos (LaBio) no Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas, onde passou por um processo de separação de partículas sólidas grosseiras através de centrifugação (3000 rpm e 15 min) e filtração em papel de filtro qualitativo para remoção apenas da parte líquida do efluente.

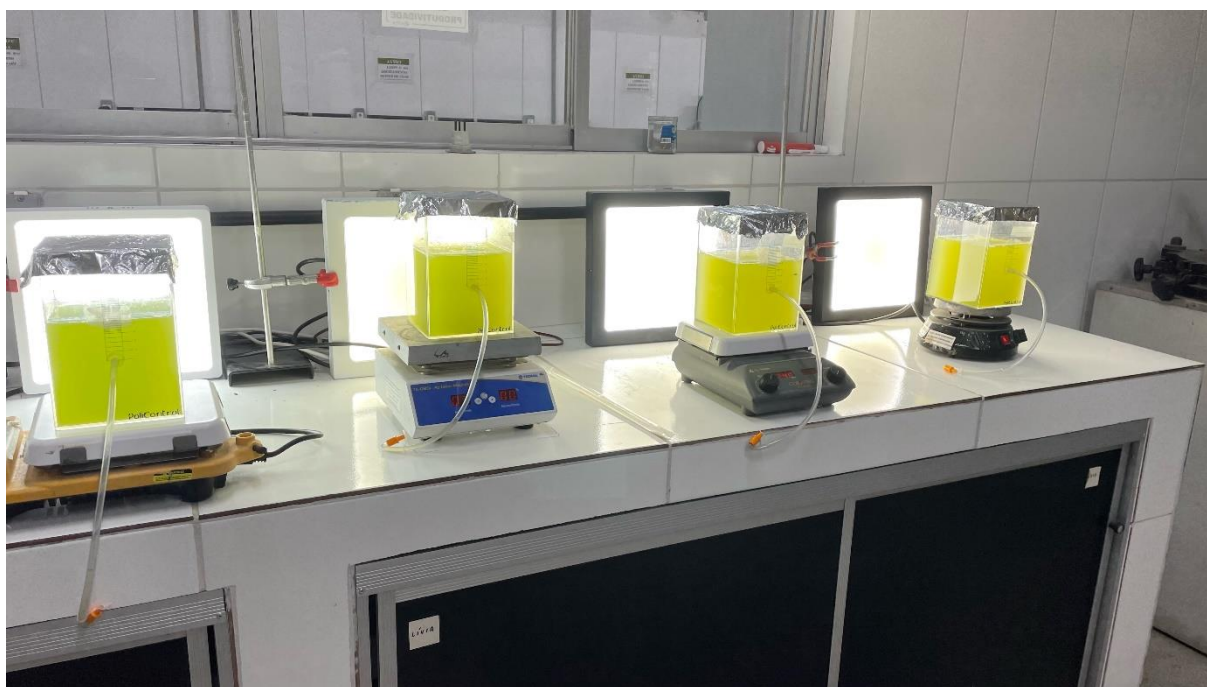
A microalga utilizada foi a espécie *Tetrademus sp.* LCE-01, isolada por diluição seriada em meio BG-11 a partir de uma amostra de floração cedida pelo Departamento de Biologia da Universidade Federal de Alagoas. A manutenção da microalga em meio solidificado de ágar nutriente (Kasvi), e em meio líquido para uso como inóculo de BG-11 (blue-green medium) (RIPPKA et al., 1973). As concentrações de inóculo nos tanques foram de aproximadamente 50 mg L<sup>-1</sup> de peso seco celular, com a finalidade de verificar a adaptabilidade da microalga em manter a dominância e se adaptar a simbiose com os microrganismos contaminantes naturais do sistema aberto.

### 4.2 Biorreator e experimentos conduzidos em semicontínuo

Foram utilizados como biorreatores vasos de acrílico transparente (PoliControl®) com dimensões de 18,7 cm x 12 cm x 12 cm com iluminação fornecida artificialmente durante todo o período do experimento (Plafon LED 25W 6500K) conforme (**Figura 4**). A fonte luminosa utilizada possuía fluxo constante, com isto a intensidade luminosa fornecida para os reatores era controlada pela distância entre a fonte de luz e o reator, com fonte luminosa irradiando uma superfície lateral de 100 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> medidas por um radiômetro (HD 2302.0 - Delta OHM). O volume inicial utilizado em cada experimento foi 1,7 L, no qual se variou a concentração de soro do leite (1 e 4 %, v/v), agitados magneticamente (SP LABOR®), e realizados a temperatura ambiente de aproximadamente 30 - 35 °C com faixa de pH entre 8,0 - 8,5 ao início.

Os ensaios consistiram em verificar o crescimento da microalga e a remoção dos contaminantes associados variando a taxa de reposição volumétrica de 20, 40, 60 e 80 % v/v. O tempo de reposição hídrica durante o processo semicontínuo foi de 3 dias.

**Figura 4** - Sistema de tratamento utilizado na pesquisa.



Fonte: Autor (2022).

#### **4.2.1 Caracterização do soro do leite e análises antes e após o tratamento**

Os principais parâmetros utilizados na caracterização dos efluentes foram peso seco celular (por gravimetria), demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total e fosfato total. As amostras após serem coletadas passaram por centrifugação a 3500 rpm por 15 min (Centrífuga ACB Labor Dry-Bloch), para separar a fase sólida (lodo microbiano usado para a determinação de peso seco) da líquida, onde os demais contaminantes são medidos. Em seguida, principalmente para determinação da DQO, as amostras passaram em filtros de nitrato e nitrato acetato celulose de 0,22 e 0,45  $\mu\text{m}$ , respectivamente; para eliminar eventuais sólidos que possam não ter sido eficientemente removidos na centrifugação e que afetam significativamente a análise.

#### **4.2.2 Peso seco celular**

Os sólidos separados na etapa de centrifugação foram transferidos para formas de alumínio previamente aferidas e levadas a estufa a 105 °C por 2h, ou até peso constante, em seguida resfriadas em dessecador por 15 minutos e pesados.

Cálculo:

$$\text{Peso seco celular (PS)} \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{N}{V} \cdot 10^6 \quad (3)$$

Onde:

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

V = volume tomado da amostra, em mL.

#### 4.2.3 Demanda Química de Oxigênio - DQO (Método do Dicromato)

Nessa análise os tubos de ensaio utilizados foram lavados com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20 % para eliminação de interferentes de amostras anteriores. Neles foram adicionados 1,5 mL da solução de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio), 2,5 mL da amostra previamente filtradas (filtros de 0,45 e 0,22 μm) e 3,5 mL do reagente de ácido sulfúrico (sulfato de prata diluído em ácido sulfúrico) (AOAC, 2002). Os quais foram agitados e colocados no bloco digestor a 150 °C por 2 horas. Após o período de digestão, as amostras foram agitadas, resfriadas submetidas a leituras no espectrofotômetro a 600 nm (Shimadzu, UV-mini 1240). O valor obtido no espectrofotômetro é expresso em mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> de DQO.

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, 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: adicionou 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, a solução padrão de Bifalato de potássio: pesou-se 425,0 mg Bifalato de potássio, HOCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOK, previamente seca em estufa a 120 °C por 2 horas, e 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. Relação teórica entre o bifalato de potássio e a DQO: 1 mg de bifalato de potássio = 1,171 mg O<sub>2</sub>.

Cálculo:

$$\begin{aligned} \text{Demanda Química de Oxigênio (DQO)} \left( \frac{mg}{L} \right) & \quad (4) \\ & = 2994,6 * Abs * Diluição \end{aligned}$$

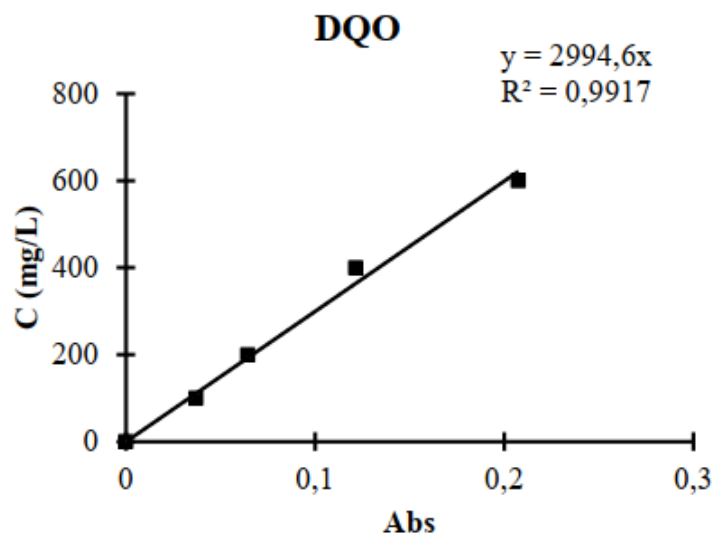
Onde:

Abs = Valor da absorbância obtida em espectrofotômetro;

Diluição = Diluição da amostra;

2994,6 = Coeficiente angular da curva padrão da **Figura 5**.

**Figura 5** - Curva padrão de DQO.



Fonte: Andrade (2019).

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

O procedimento utilizado foi uma adaptação do Método de Kjeldahl utilizado para efluente agroindustriais, consistindo como na metodologia de 3 etapas: digestão da amostra, destilação e titulação (IAL, 2005, AOAC, 2002). A primeira etapa consiste na digestão da matéria orgânica no qual 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 aquecido em bloco digestor (TECNAL, TE007 MP), a temperatura foi elevada suavemente atingindo cerca de 300 °C, as amostras digeridas apresentaram coloração incolor ou levemente esverdeada.

Na segunda etapa ocorreu a destilação do nitrogênio. Nos tubos onde ocorreu a digestão, após se resfriarem à temperatura ambiente, foram adicionadas de um pouco de água cuidadosamente, e 2 gotas de fenolftaleína 1 % sendo em seguida acoplados no destilador de nitrogênio (TECNAL, TE-0363), inseriu-se NaOH 40 % até pH alcalino (mudança da coloração para rosa). Iniciou-se processo de aquecimento da amostra (início do processo de destilação) sendo o destilado coletado em um Erlenmeyer de 250 mL contendo ácido bórico. O Erlenmeyer 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 se recolheu 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:

$$\text{Nitrogênio Total (NT)} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{V_{\text{HCl}} \cdot f_{\text{HCl}} \cdot N_{\text{HCl}} \cdot 14000}{V} \quad (5)$$

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.

Padronização da solução de ácido clorídrico: Colocou-se certa quantidade de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  PM = 106) em estufa a 100 °C por 1 hora, deixou esfriar em dessecador por 15 minutos. Pesou cerca de 0,25 g de bicarbonato isento de umidade, dissolveu em água isenta de  $\text{CO}_2$  (previamente fervida), adicionou-se 2 gotas de alaranjado de metila. Titulou-se com a solução de HCL até a primeira coloração.

Cálculo:

$$f = \frac{2 \cdot m}{0,106 \cdot V_{\text{HCl}} \cdot N_{\text{HCl}}} \quad (6)$$

Onde:

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

$m$  = massa do bicarbonato;

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

$N$  = Normalidade ácido clorídrico.

#### 4.2.5 Fosfato Total (método do ácido ascórbico)

Em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL da amostra e 0,4 mL da solução desenvolvedora de cor, tampou-se os tubos e aguardou-se cerca de 10 min, em

seguida foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 706 nm (Shimadzu, UV-mini 1240).

Cálculo:

$$\text{Fosfato Total (FT)}(PO_4^{-3}) \left( \frac{mg}{L} \right) = 11,031 \cdot Abs \cdot Diluição \quad (7)$$

Onde:

Abs = Valor da Absorbância obtida em espectrofotômetro;

Diluição = Diluição da amostra;

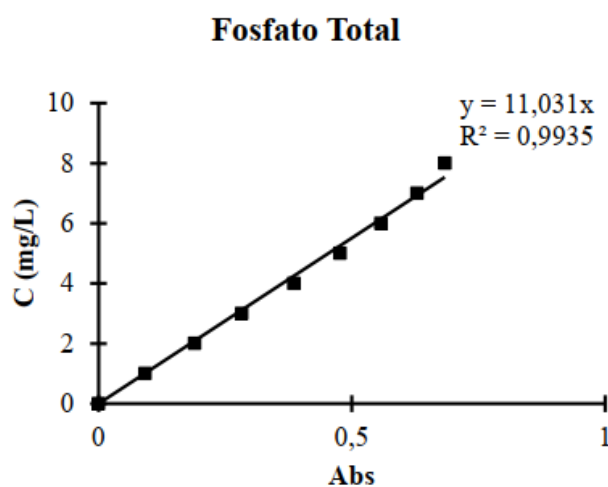
11,031 = Coeficiente angular da curva padrão da **Figura 6**.

Para a conversão em fósforo basta multiplicar pela relação entre as massas moleculares de fósforo e fosfato, de 31 e 95 g mol<sup>-1</sup>, consistindo em um fator 31/95.

A solução desenvolvedora de cor foi formada pela seguinte fração das soluções: A = 0,5; B = 0,05; C = 0,15 e D = 0,3. Esta solução é estável por 4 horas. As soluções são preparadas da seguinte forma:

- Solução A: ácido sulfúrico 5 N;
- Solução B: tartarato misto de antimônio e potássio hemihidratado: 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 para 500mL de água;
- Solução D: ácido ascórbico 0,01M, 1,76 g para 100 mL de água.

**Figura 6** - Curva padrão de Fosfato total.



Fonte: Andrade (2019).

#### **4.2.6 Determinação do pH**

Transferiu-se a amostra para um Becker. Determinou-se o pH com o aparelho previamente calibrado (tampões pH 4,0 e pH 7,0), operando-o de acordo com as instruções do manual do fabricante (TECNAL).



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em seguida são apresentados os resultados obtidos a partir de três ciclos do processo em semicontínuo utilizando soro do leite diluído (1 e 4 % m/v) (7 - 16º dia), logo após o período em batelada (1 - 7º dia) para a remoção de DQO, nitrogênio total (NT) e fosfato total (FT), além da biomassa produzida e o comportamento do pH durante o processo. O tempo de realimentação (TR) foi de 3 dias, que considerando uma taxa de reposição volumétrica (TRV) de 20, 40, 60 e 80 % promovem tempos de retenção hidráulico (TRH) de 15, 7,5, 5 e 3,75 dias, respectivamente.

### 5.1 Caracterização físico-química do soro do leite

A caracterização do soro leite, **Tabela 3**, mostrou elevados teores de DQO, nitrogênio e fosfato. Concentrações similares foram obtidas por Salati et al. (2017), onde obteve 147 g O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, 805 mg L<sup>-1</sup> e 400 mg L<sup>-1</sup>, de DQO, nitrogênio e fósforo, respectivamente, para o soro do leite.

**Tabela 3** - 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> )	1563,82 ± 35,00
Fosfato (mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> L <sup>-1</sup> )	663,5 ± 12,00 (ou 216,51 ± 4,00 em termos de fosfato total)
pH	6,33

Fonte: Medeiros (2022).

Saddoud et al. (2007) caracterizaram um soro do queijo cru que possui concentrações de 68.600 ± 3.300 mg L<sup>-1</sup>, 1.120 ± 10 mg L<sup>-1</sup> e 500 ± 1,8 mg L<sup>-1</sup>, para DQO, NT e PT respectivamente. A composição do soro do leite varia conforme a fonte animal do leite, tipo do produto final obtido, ao processo de produção, bem como as condições oferecidas pelo ambiente industrial (CARVALHO et al., 2013).

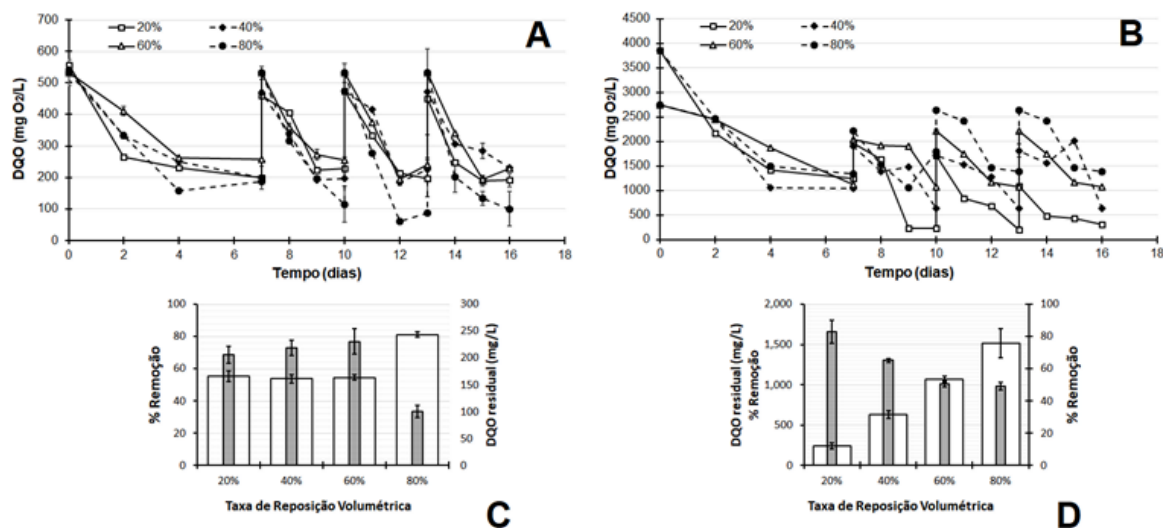
Outro exemplo é a pesquisa de Tsolcha et al. (2016) que avaliaram um tratamento com a alga *Choricitisis* em efluentes de soro de queijo secundário na produção de biodiesel com concentrações iniciais DQO 1100 - 7295 mg L<sup>-1</sup>; NO<sup>3-</sup> 3,8 - 22,8 mg L<sup>-1</sup>; NT 32,9 - 102,5 mg L<sup>-1</sup>; 1,2 - 44,8 mg L<sup>-1</sup> de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.

## 5.2 DQO

Percebe-se que houve repetibilidade dos ciclos mostrando estabilidade na remoção de DQO pelo sistema (**Figura 7A e C**). Cabe ressaltar que o sistema é aberto, portanto está sujeito à contaminação, e que possa haver uma simbiose (logo, benéfica) para os processos de remoção de matéria orgânica e inorgânica. No entanto, é importante que a taxa de reposição volumétrica garanta que tenha restado inóculo suficiente para em 3 dias de tempo de troca volumétrica haja a eficiente remoção dos contaminantes, o que para DQO se mostrou interessante. Taxas similares de remoção máximas de DQO foram em torno de 70 e 80 %, para 1 e 4 % do soro do leite respectivamente (**Figura 7B e D**). É esperado que com o aumento da taxa de reposição volumétrica que indica um menor tempo de residência no reator haja uma permanência ou diminuição da taxa de remoção do contaminante, o que não foi verificado para o experimento com taxa de reposição de 80 % utilizando 1 % de soro do leite (**Figura 7C**), por isso será necessário que o experimento seja refeito para confirmar a hipótese, uma vez que os experimentos a 4 % confirmaram o comportamento teórico esperado.

A concentração residual de DQO para o soro do leite a 1 % (v/v), foi em torno de 200 - 250 mg L<sup>-1</sup> o que está ainda acima da norma europeia para lançamento em corpos hídricos de 125 mg L<sup>-1</sup> e uma remoção mínima de 75 % no tratamento (European Union Legislation, 1991), alcançada somente quando se utiliza 80 % de TRV (ainda não conclusivo, visto discrepância com o comportamento teórico esperado). Por outro lado, com o soro do leite a 4 %, valores entre 65 - 80 % de tratamento foram obtidos, mesmo que a DQO residual tenha ficado entre 240 - 630 mg L<sup>-1</sup>, e também fora dos parâmetros para lançamento.

**Figura 7** – Remoção de DQO no tratamento de soro do leite 1 % (A e C) e 4 % (B e D) (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica em A) e C) Acompanhamento cinético e B) e D) % de Remoção total de DQO (barras cinzas) e quantidade de DQO residual (barras brancas), respectivamente.



Fonte: Autor (2022).

Sendo assim é preciso melhorias no processo para uma melhor remoção de DQO como uma aeração forçada, aumento do tempo de reposição volumétrica e realização de co-cultivos seja bacteriano ou fúngico, otimizando assim as trocas gasosas realizadas na superfície do líquido ou como resultado da interação gasosa entre as microalgas. As bactérias/fungos podem remover carbono orgânico e fornecer uma simbiose adequada é manter o sistema operando com as melhores características (BAHMAN et al., 2020; RODRIGUES et al., 2020).

O uso ou não de aeração forçada depende das características do efluente, do sistema, da simbiose com outros microrganismos e dos parâmetros operacionais, pois na literatura se sabe trabalhos que utilizam microalgas em sistemas abertos que tratam o efluente inserindo (DE FARIAS SILVA; SFORZA, 2016; LIZZUL et al., 2014; YE et al, 2020) ou não, aeração forçada (VAZIRZADEH et al., 2021; AMINI et al., 2020).

Alguns exemplos de sistemas que utilizam as microalgas para tratamento de efluentes em processo semicontínuo são demonstrados na literatura. Viegas et al. (2021) utilizando *Chlorella vulgaris*, *Chlorella protothecoides* e *Tetrademus obliquus* no tratamento de águas residuais de matadouro de aves com e sem um pré-tratamento com cinzas em processo descontínuo e semicontínuo com a taxa de reposição entre 10 – 30 % e tempo retenção hidráulico foram de 10, 5, 3 e 2 dias com um período de 28 dias no semicontínuo. Com valores iniciais de DQO de 5630 - 6140 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, FT 4,59 - 17,14 mg L<sup>-1</sup> e NT 205 - 271 mg N L<sup>-1</sup>, respectivamente. As taxas de remoção do processo descontínuo e semicontínuo foram de NT

100 % e 100 %, FT 80 % e 100 %, DQO 70 % e 92 %, respectivamente. O processo semicontínuo melhorou significativamente a taxa de remoção de DQO e FT no processo de remoção de contaminantes e neste caso a taxa de reposição volumétrica de 20 % foi a com melhor desempenho e a *Tetradismus obliquus* foi a microalga com melhores resultados.

Salgueiro et al. (2018) utilizaram *Chlorella vulgaris* no tratamento de efluentes em três tipos diferentes de águas residuais com concentrações iniciais (DQO 720 - 2240 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> e PO<sub>4</sub><sup>-</sup> 1,5 - 4,53 mg L<sup>-1</sup> com 50 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> com fotoperíodo de 14/10 h e aeração, em processo semicontínuo num período de 15 dias e com reposição volumétrica de 25, 50, 75 e 90 % que foram feitas nos dias 4, 7, 9, 10, 13 respectivamente. Os dados obtidos mostraram uma remoção de matéria orgânica de até 69 %, remoção de 88 % de DQO bem como a eliminação quase total de fosfatos; ambos os valores ficaram abaixo dos limites exigidos pela Diretiva da Comissão Européia (98/15/EEC). O crescimento máximo foi alcançado em valores de pH dentro do intervalo de 7,6 - 9,7 durante todo o ciclo de crescimento. Foi observada uma boa adaptabilidade desta microalga, bem como uma boa taxa de sobrevivência ao longo do tempo.

Outro exemplo de estudo que avaliou a remoção de DQO por *Chlorella sp.* foi realizado por Li et al. (2011), cultivada em efluente urbano altamente concentrado, rico em fósforo (NT = 132,3 mg L<sup>-1</sup>, FT = 657,79 mg L<sup>-1</sup>, DQO = 2389,5 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) tendo um processo realizado inicialmente em batelada por 14 dias. Experimentaram um sistema com taxa de reposição volumétrica de 50 % do volume contido no reator, com intensidade luminosa de 50 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Nos dois primeiros dias de cultivo a concentração de DQO reduziu drasticamente para 230 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. No final da experiência foi alcançado uma remoção de 90,8 %. Entretanto no estudo de Chen et al. (2021) de otimização do processo de tratamento de efluentes de suinocultura à base do cultivo da *Chlorella sorokiniana* AK-1 em efluentes de suinocultura com concentrações de (DQO 3334 mg/L, DBO 928 mg L<sup>-1</sup>, NT 279 mg L<sup>-1</sup>, FT 317,93 mg L<sup>-1</sup>). Com a utilização de células imobilizadas (esponja, carvão ativado) em cultivo semicontínuo com uma taxa de reposição de 90 % a cada 6 dias, apresentou eficiência de remoção de DQO 82,7 % e no contínuo 78,2 %. As características do efluente tratado atenderam aos Padrões de Descarga de Águas Residuais de Suínos de Taiwan (DQO < 600 mg/L). A taxa de remoção das microalgas varia com o tipo de efluente, composição e concentração o processo em semicontínuo melhora significativamente a taxa de remoção.

Em adição, Fernández-Linares et al (2020) avaliaram o cultivo semicontínuo de microalgas em consórcio em tanques abertos de 200 L utilizando suinocultura como substrato (com concentrações iniciais de DQO 17.845 mg L<sup>-1</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 10.321 mg L<sup>-1</sup> e PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> 7,12 mg L<sup>-1</sup>

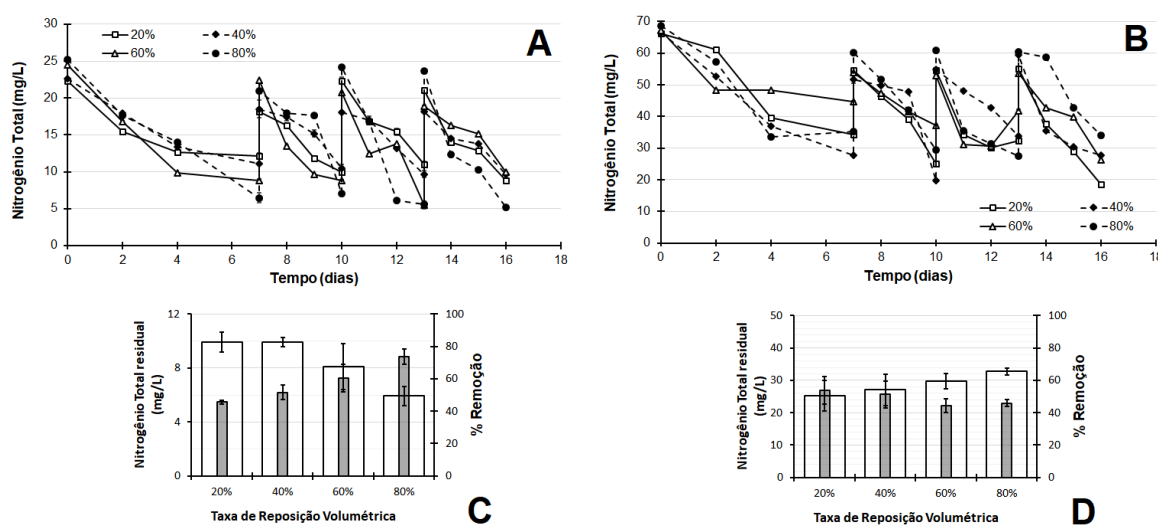
<sup>1</sup>). O sistema teve a duração de 112 dias com 6 ciclos de 13 dias com uma taxa de reposição volumétrica de 50 % a cada ciclo obtendo uma taxa de remoção de DQO de 90,64 %.

Deste modo, a eficiência na remoção de DQO em culturas de diversas microalgas fica evidenciada para diferentes características de efluentes e configurações de sistema operados em modo semicontínuo, mesmo ainda não alcançando na maioria dos casos valores suficientes para descarte em corpos hídricos segundo a legislação europeia. No Brasil, não há ainda uma referência para DQO. Percebe-se que valores de TRV de até 50 % são muito utilizadas e podem fornecer altas taxas de remoção de DQO.

### 5.3 Nitrogênio Total

Para nitrogênio total, a concentração residual variou entre 6 - 9,8 mg L<sup>-1</sup> e 25 - 33 mg L<sup>-1</sup> (**Figura 8A e C**), e uma taxa máxima de remoção em torno de 80 e 60 %, (**Figura 8B e D**) para o soro do leite 1 e 4 %, respectivamente.

**Figura 8** – Remoção de Nitrogênio Total (NT) no tratamento de soro do leite em função da taxa de reposição volumétrica. A) e C) Acompanhamento cinético, B) e D) % de Remoção total de NT (barras cinzas) e quantidade de NT residual (barras brancas), no tratamento do soro do leite a 1 e 4 % (v/v) respectivamente.



Fonte: Autor (2022).

O nitrogênio e o fósforo têm um papel fundamental na formação de biomassa microbiana. Inclusive a adição de microalgas durante o tratamento visa principalmente a melhor remoção de N e P para atender aos requisitos legais, uma vez, que a matéria-orgânica é mais eficientemente removida por bactérias e fungos (BUONO et al, 2016; DE FARIAS; SFORZA, 2016; YANG et al, 2019).

Com o soro na concentração de 1 %, percebe-se que esse parâmetro para lançamento em corpos hídricos europeu consegue ser alcançado de 10 - 15 mg L<sup>-1</sup> de N, mas a % mínima de tratamento é entre 70 - 80 % (European Union Legislation, 1991), que não conseguiu ser alcançado, com exceção da taxa volumétrica de reposição de 80 % (como explicado anteriormente, é um comportamento atípico do teórico esperado, e necessita ser revisto). Adicionalmente, percebe-se que o soro na concentração de 4 % possui uma quantidade de nitrogênio em excesso, e as alternativas como adição de aeração, aumento do tempo de reposição ou co-cultivo microbiano ganham força para melhorar a eficiência do processo.

Pode-se citar alguns exemplos de processo semicontínuos conduzidos com microalgas para tratamento de efluentes e suas remoções de nitrogênio total. Por exemplo, no estudo conduzido por Viegas (2021), *Chlorella vulgaris* e *Tetradismus obliquus* em um processo de 28 dias com concentração inicial de NT de 205 - 271 mg N L<sup>-1</sup> foram alcançadas taxas de remediação de 100 % para nitrogênio total disponível com diferentes reposições volumétricas entre 10 - 30 % e 10, 5, 3 e 2 dias de TRH. Entretanto no estudo de Amini et al. (2020), utilizaram *Chlorella vulgaris* e lodo ativado em 3 diferentes proporções de inóculo (5:1, 1:1, e 1:5) no tratamento de efluentes municipais em processo semicontínuo sem aeração forçada. Em 21 dias, removeram 88 % de N-NH<sub>4</sub><sup>3-</sup> no reator de membrana e 77 % no fotobiorreator com uma taxa de reposição volumétrica de 15 % diária.

Adicionalmente, Ruiz-Marin, Mendoza-Espinosa e Stephenson (2010), estudaram o crescimento e remoção de nutrientes por *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris* em culturas em semicontínua. O tempo de reposição (TR) foi de 1,46 dias por 6 ciclos. Os resultados trazem uma média de 87 % para a *S. obliquus* e 84 % da *C. vulgaris* de remoção de N-NH<sub>4</sub> utilizando efluente urbano (esgoto) contendo 34 - 48 mg L<sup>-1</sup> de N em forma de amônia e 4,2 mg L<sup>-1</sup> de N em forma de nitrato nos 4 primeiros ciclos.

Conforme visto anteriormente Fernández-Linares et al (2020), na avaliação do cultivo semicontínuo de microalgas em consórcio utilizando suinicultura como substrato (com concentrações iniciais de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 10321 ± 1125 mg L<sup>-1</sup>). Em um processo de 112 dias com 6 ciclos de 13 dias cada uma taxa de reposição de 50 % a cada ciclo obteve uma taxa de remoção de 100 % de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> o qual foi preciso fazer uma suplementação de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de 80 mg L<sup>-1</sup>.

Por fim, em um estudo conduzido por Samorì, et al. (2014) que avaliou o desempenho da microalga *Desmodesmus communis* na remoção de nutrientes em um efluente municipal primário operados em semicontínuo por 7 dias e com TR de 5, 3 e 1,5 dias, constatou que para as condições do experimento de 32,39 N-NH<sub>3</sub> mg L<sup>-1</sup> e 2,39 mg de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> L<sup>-1</sup>) é possível remover

99 % de NT e FT dos nutrientes em 5 dias, com reposição volumétrica de 67 % do reator, ou em 3 dias de detenção hidráulica e 33 % de reposição volumétrica do reator. Além disso, foi testado ainda o desempenho para 1,5 dias e reposição de 20 % do reator, tendo esta última configuração removido somente 47 % da amônia presente, contudo, removeu 99 % do fosfato total presente.

Novamente, percebeu-se que a combinação entre TRV e TR são essenciais para verificar a remoção eficiente de nitrogênio. Como pode se observar valores de TRV de até 50 % podem alcançar % de remoção > 70%, e portanto, estando de acordo com a legislação europeia, e isso reforça o fato de que o sistema com melhorias poderia alcançar a eficiência necessária.

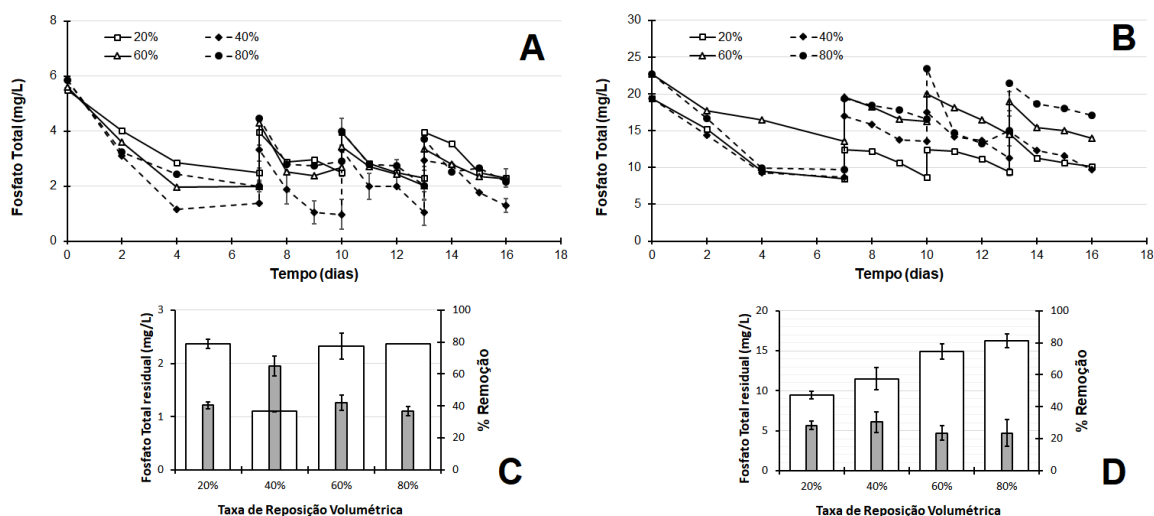
#### 5.4 Fosfato Total

Para fosfato total, a concentração residual variou entre 1 - 6 mg L<sup>-1</sup> e 9 - 16 mg L<sup>-1</sup> (**Figura 9A e C**), e uma taxa máxima de remoção em torno de 70 e 30 %, (**Figura 9B e D**) para o soro do leite 1 e 4 %, respectivamente.

De forma similar ao nitrogênio total, o fosfato no soro do leite diluído a 4 % está em excesso e é necessário pensar em sua eficiência de remoção seja durante o próprio processo (aeração forçada, aumento do TR ou co-cultivo com bactérias/fungos) ou em um tratamento terciário complementar. Adicionalmente, o processo realizado com o soro a 1 % (v/v) conseguiu atingir o limite europeu que varia entre 3,1 - 6,2 mg L<sup>-1</sup> de fosfato para descarte em corpos hídricos (European Union Legislation, 1991).

Percebeu-se que ela foi crescente até 40 % de taxa de reposição volumétrica, decaindo nos valores de 60 – 80 % (**Figura 9B e D**). Percebeu-se uma redução na concentração de microalgas nessas taxas maiores, provavelmente pela remoção de grande quantidade de massa microalgal e nos 3 dias de tempo de troca volumétrica serem pouco para a restituição da flora original, e verifica-se que isso influencia bastante no processo de remoção de fósforo do sistema.

**Figura 9** – Remoção de Fosfato Total (FT) no tratamento de soro do leite em função da taxa de reposição volumétrica. A) e C) Acompanhamento cinético, B) e D) % de Remoção total de NT (barras cinzas) e quantidade de FT residual (barras brancas) para o soro 1 e 4 % (v/v), respectivamente.



Fonte: Autor (2022).

A remoção de fósforo, seja em processos aeróbios ou anaeróbios é de fundamental importância pois sua alta concentração é diretamente ligada ao processo de eutrofização de corpos hídricos, em conjunto com a de nitrogênio (LI et al., 2019; SALGUEIRO et al. 2018). É citado na literatura a dificuldade de remoção biológica de fósforo e que os efluentes possam passar por processos adicionais de tratamento (LI et al., 2019; MANIRAFASHA et al., 2016; TANG et al., 2020; YU et al., 2018).

As microalgas e cianobactérias, como causadoras do processo e eutrofização, podem remover fósforo e acumular isso intracelularmente de forma muito eficiente, e é um dos motivos da inclusão delas no processo de tratamento (CHU et al., 2021; LENG et al., 2021; SALGUEIRO et al., 2018).

Alguns exemplos de remoção de fosfato em efluentes podem ser citados como em Li et al. (2011), que cultivaram *Chlorella sp.* em efluente urbano altamente concentrado rico em FT com concentração inicial de  $657,9 \text{ mg L}^{-1}$ , com reposição volumétrica de 50 % do volume contido no reator, com intensidade luminosa de  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  obtendo nos primeiros 4 dias de cultivo uma concentração de FT de  $138,0 \text{ mg L}^{-1}$  e após os 14 dias, evidenciaram uma remoção de 80,9 %. Ruiz et al. (2010), sob condições citadas anteriormente, obteve 85 % de remoção de fosfato total. Eles ainda sugeriram um método proposto para melhorar a remoção do fosfato em biorreatores é a utilização de culturas em *starvation*, que podem acumular mais fosfato do que o nível obtido. Apresentaram uma elevada afinidade e boa absorção de fósforo



durante quatro ciclos, considerando que a remoção de fosfato das águas residuais depende da sua biodisponibilidade.

Solís-Salina et al. (2021) em sua pesquisa de consorcio das microalgas *Geitlerinema sp.*, *Coellastrella sp* e *Scenedesmus sp* cultivadas em efluentes domésticos de baixa carga em diferentes tempos de retenção hidráulica (TRH) em regime semicontínuo com concentração inicial de  $P-PO_4^{3-}$  de  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . O tempo de operação do processo foi de 30 dias com o volume de 50 % de reposição e TR de 10, 8 e 6 dias, a taxa de remoção de  $P-PO_4^{3-}$  foi respectivamente 90 %, 85 % e 38 %.

Cai et al. (2013) avalia o uso potencial de *Synechocystis sp.* PCC6803 e a *Nannochloropsis salina*. Para produção de lipídios usando meio artificial de água do mar (ASW) suplementado com efluente de digestão anaeróbia (ADE). As condições de cultivo foram luz contínua de ( $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), temperatura de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , com uma taxa de reposição volumétrica de 50 % a cada 1, 2 e 3 dias com um período total de cultivo de 18 dias e com concentrações iniciais de DQO, NT e FT respectivamente de 80 - 2661, 80 - 2667 e 34,97 - 1165,86  $\text{mg L}^{-1}$ . *Synechocystis sp.* obteve uma taxa de remoção de 100 % de FT e um resíduo de 11,0  $\text{mg L}^{-1}$  de NT. Para *N. salina* obteve um valor residual de NT e FT a cada 3 dias de 17,6 e 11,94  $\text{mg L}^{-1}$  e a cada 1 dia de 71,7 e 53,86  $\text{mg L}^{-1}$  foram observados, respectivamente.

Bahman et al. (2020) em seu estudo de biotratamento de águas residuais municipais avalia os efeitos do comprimento de onda e da luz intensidade na remoção de fosfato e amônio e biomassa e proteína utilizando a *Spirulina platensis* em semicontínuo. As condições do processo foi inoculação de 40 % em tanque aberto com luz vermelha, azul e roxa com intensidade de luz de 3800, 4800 e 5800 lux sob 12/12 h luz. O cultivo foi conduzido em semicontínuo com reposição a cada 4 dias de um terço do volume num período de 8 dias. A quantidade de remoção de fosfato e de amônio de concentração 145 e 218  $\text{mg L}^{-1}$ , foi cerca de 93 % e 100 % sob luz roxa na intensidade de 5800 lux, respectivamente. Percebe-se que valores de 50 % de TRV podem fornecer taxas de remoção eficientes de fosfato, que para os resultados obtidos, nesse caso, foi coerente.

De forma semelhante a DQO e NT, para fosfato total, na maioria dos casos, uma melhor remoção foi alcançada com TRV de até 50 %, o que reforça a utilização desses valores na condução de experimentos futuros que visem melhorar a performance do sistema.

## 5.5 Peso seco celular e pH

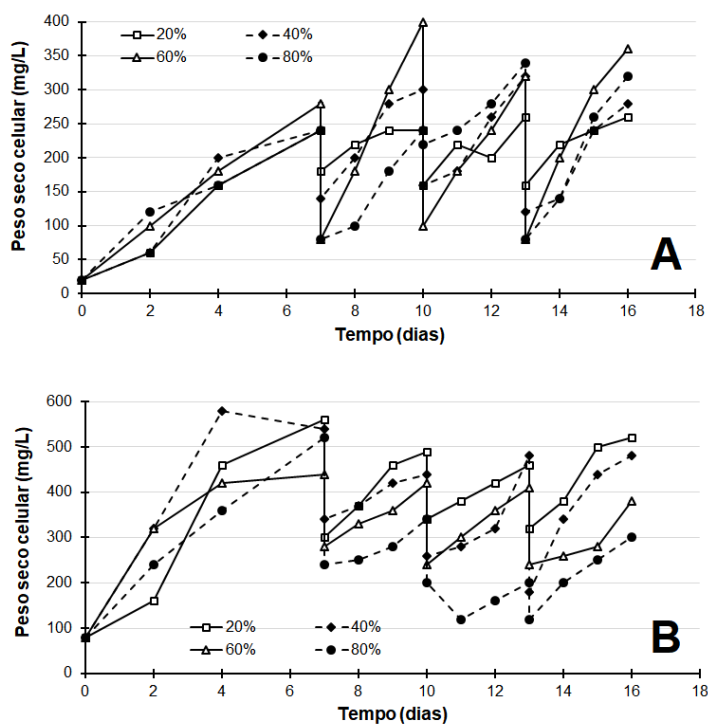
Pela **Figura 10**, percebe-se que a concentração de biomassa microbiana alcançou valores entre 250 - 600 mg L<sup>-1</sup>, com maiores concentrações obtidas no soro do leite 4 %. Segundo Choi et al. (2016), o crescimento microbiano de microalgas é proporcional a remoção dos contaminantes, principalmente carbono orgânico, nitrogênio e fósforo, por isso, é necessário comparar sempre visualizando a concentração inicial dos contaminantes.

Pode-se citar o trabalho de Chen et al. (2021) no estudo de otimização do processo de tratamento de efluentes de suinocultura à base do cultivo da *Chlorella sorokiniana* AK-1 em concentrações de DQO - 3334 mg L<sup>-1</sup>, DBO - 928 mg L<sup>-1</sup>, NT - 279 mg L<sup>-1</sup> e FT - 317,93 mg L<sup>-1</sup>, em semicontínuo com taxas de reposição volumétricas de 50, 70 e 90 % com o tempo de realimentação a cada 6 dias. Conseguiram uma concentração média de biomassa em semicontínuo 5 - 6,5 g L<sup>-1</sup> enquanto no contínuo a concentração diminuiu para 2,28 g L<sup>-1</sup>.

Outro exemplo mostrado anteriormente é Bahman et al. (2020) em seu estudo de águas residuais municipais avaliou os efeitos do comprimento de onda e da luz intensidade utilizando a *Spirulina platensis* em semicontínuo. O cultivo foi conduzido em condições de semicontínua com reposição a cada 4 dias de um terço do volume num período de 8 dias. A qual obteve o melhor resultado como mostrado, total concentração de biomassa (5,45 g L<sup>-1</sup>) foi observada em azul luz, intensidade de 5800 lux, após 8 dias de cultivo. Para a luzes vermelha e roxa, até o segundo dia de cultivo o crescimento não foi afetado pela intensidade da luz, mas a partir do quarto dia de cultura, eficácia da luz intensidade no crescimento foi detectada; enquanto na luz azul tratamento, a concentração de biomassa foi influenciada por a intensidade desde o início do processo.

Kong et al. (2020) estudaram os efeitos de diferentes íons metálicos (Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> e Fe<sup>3+</sup>) no crescimento, acúmulo de lipídios e sedimentação de *Scenedesmus sp.* no meio de ácidos graxos (Concentração inicial de DQO 3750 mg L<sup>-1</sup>, NT 142,0 mg L<sup>-1</sup> e FT 113,2 mg L<sup>-1</sup>) em efluente de digestão anaeróbica com uma taxa de reposição de 50 % a cada 2 dias. No processo em batelada o Mg<sup>2+</sup> e o Fe<sup>3+</sup> mostraram-se mais eficazes e a concentração de biomassa de 1,02 g L<sup>-1</sup> no semicontínuo foi de 1,15 g L<sup>-1</sup>. A adição de Al<sup>3+</sup> pode aumentar a eficiência de sedimentação, ao mesmo tempo em que tem efeito inibitório sobre a produção de biomassa e lipídios.

**Figura 10** – Peso seco celular no tratamento de soro do leite 1 % (A) e 4 % (v/v) (B) em função da taxa de reposição volumétrica.



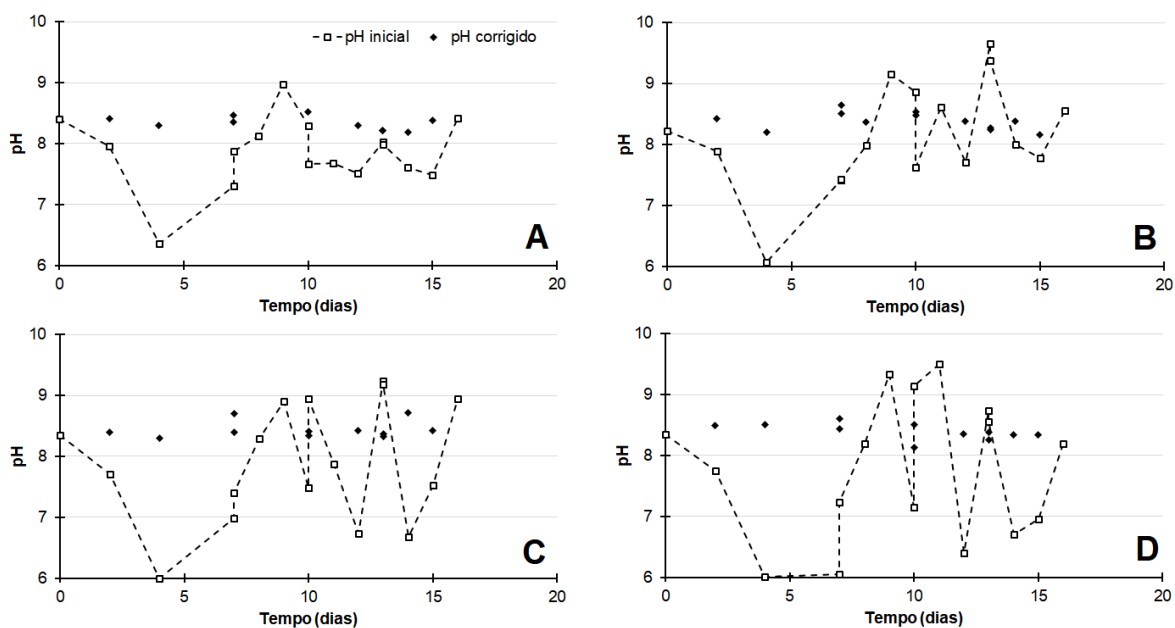
Fonte: Autor (2022).

A produtividade de microalgas não depende apenas da disponibilidade de carbono, mas também de nutrientes, como nitrogênio e fósforo. Salati et al. (2017), cultivaram *Chorella vulgaris* usando soro do queijo (SQ) ( $DBO_5/DQO = 0,66 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $NT = 805 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $P-PO_4^{3-} = 1224 \text{ mg L}^{-1}$ ), borra de vinho branco (BVB) ( $DBO_5/DQO = 0,9 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $NT = 219 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $P-PO_4^{3-} = 550,8 \text{ mg L}^{-1}$ ), e glicerol (G) ( $DBO_5/DQO = 0,78 \text{ mg L}^{-1}$ , concentrações de N e P abaixo dos níveis detectáveis) e efluente ultrafiltrado (UF) foi utilizado como fonte de N ( $1377 \text{ mg L}^{-1}$ ) e  $P-PO_4^{3-}$  ( $918 \text{ mg L}^{-1}$ ), representando menos de 2 %, como fontes de carbono ( $2,2 \text{ g C L}^{-1}$ ), sob condições mixotróficas e cultivo contínuo ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH } 8,4$ , aeração contínua de  $10 \text{ L min}^{-1}$ ,  $540 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) com TRH de 5 dias. Foi obtido para soro do queijo, borra de vinho branco, glicerol apresentou produção de  $2,59 \text{ g L}^{-1}$ ,  $1,75 \text{ g L}^{-1}$  e  $1,65 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente.

Percebe-se que valores de peso seco maiores aos encontrados com 1 e 4 % do soro do leite, no entanto, a concentração inicial de contaminantes foi menor que nesses estudos anteriormente citados, além disso, no estudo em questão não houve aeração forçada e isso pode ser um ponto de diminuição do fornecimento seja de oxigênio quanto de gás carbônico, afetando também o rendimento em biomassa, que apesar de mais baixa é proporcional a carga orgânica inserida no biorreator.

Pela **Figura 11** e **12**, percebe-se que houve a necessidade de controle do pH durante o processo de tratamento. Isso é importante, uma vez que bactérias/fungos crescem em sistemas perto da neutralidade e levemente alcalinos, e as microalgas preferem valores de pH entre 7,5 - 10, logo uma associação simbiótica caso ocorra, pode não interferir negativamente no processo (MORONE et al., 2019; SALGUEIRO et al., 2018).

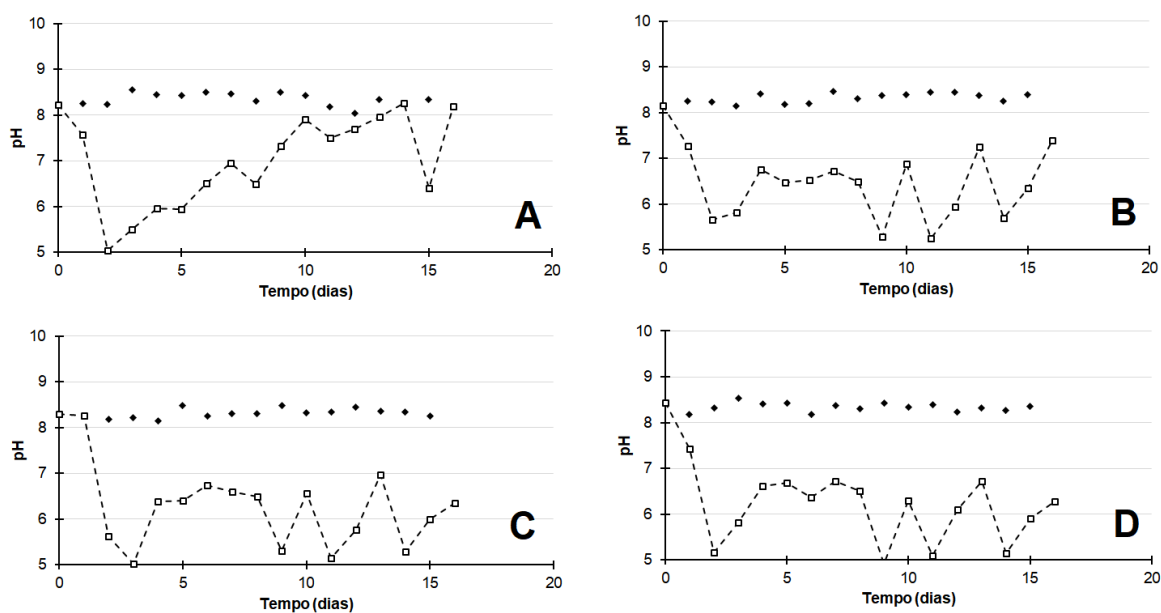
**Figura 11** – pH durante o tratamento de soro do leite 1 % (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica, A) 20 %, B) 40 %, C) 60 % e D) 80 % (v/v). ♦ representam o pH corrigido e □ o pH inicial.



Fonte: Autor (2022).

No entanto, o processo inicial de degradação da matéria orgânica, principalmente por bactérias e fungos, ou das próprias microalgas, é acidogênica (LENG et al., 2021; CHU et al., 2021), se a queda brusca no pH não for controlada, isso pode colapsar a viabilidade celular no reator, uma vez que a formação de ácidos pode não ser acompanhada com a mesma velocidade de sua metabolização.

**Figura 12** – pH durante o tratamento de soro do leite 4 % (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica, A) 20 %, B) 40 %, C) 60 % e D) 80 % (v/v). ♦ representam o pH corrigido e □ o pH inicial.



Fonte: Autor (2022).

Também foi verificado que no processo semicontínuo com 1 % de soro do leite (**Figura 11**), em TRVs entre 20 – 60 % o pH tende a se elevar, e isso provavelmente é um resultado da estabilização da concentração de microalgas frente a de bactérias/fungos e formação de ácidos, pois para TRV de 80 %, percebeu-se que a concentração de microalgas era bem menor entre os reatores, mesmo havendo produção de biomassa microbiana. Para o sistema utilizando o soro em 4 %, a acidificação ocorreu durante todo o processo de tratamento, resultado da elevada carga orgânica que continuamente era degradada (**Figura 12**).

As microalgas geralmente aumentam o pH do efluente durante o tratamento. O aumento de pH significa um efeito da fotossíntese microbiana. Li et al. (2019), também afirmou que a estabilização do pH ocorre em razão do consumo parcial dos ácidos orgânicos, liberados pelos fungos e bactérias, 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.

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

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho realizou um estudo do tratamento águas residuais de soro do leite diluídas para concentrações de 1 e 4 % em reator aberto operando em modo semicontínuo, avaliando a capacidade da microalga *Tetradismus obliquus* em remover DQO, FT, NT e produção de biomassa variando o TRV.

A utilização de microalgas para a remoção de nutrientes em operação semicontínua tem sido aplicada em diferentes tipos de efluentes industriais. Para o desenvolvimento da cultura, diversos parâmetros devem ser avaliados. A influência da intensidade de luz, pH, TRV, TR e a concentração do efluente influenciam significativamente no crescimento da biomassa do reator e remoção de nutrientes. A remoção da DQO, NT e FT foram influenciadas pela TRV e concentração do efluente (carga orgânica).

O tempo de tratamento em batelada foi de 7 dias para estabilização do meio microalgal. A implementação da operação semicontínua com tempo de reposição volumétrica (ou realimentação) de 3 dias e sem a necessidade de adição de inóculo, mostrou que o sistema se mantém estável por mais de 14 dias, operando 1 batelada e 3 ciclos em semicontínuo, que é o tempo aproximado num sistema em batelada único nessas condições. As taxas de reposição volumétrica que mostraram maior estabilidade na concentração de 1 e 4 %, sejam na produção de biomassa ou na remoção de DQO, nitrato e fosfato, se situaram entre 20 – 40 % de reposição, mostrando que as TRV mais altas não atendem a estabilidade requerida pelo sistema nessas condições. Entretanto para a concentração de 1 % de soro de leite, TRVs entre 60 - 80 % mostraram um comportamento atípico e necessita ser revisto com replicatas do experimento. Com relação a concentração do soro do leite, foi possível verificar que a concentração de 4 % obteve uma boa remoção apesar do excesso de nutrientes e processos adicionais podem ser necessários.

No que diz respeito as limitações da pesquisa, evidenciou-se em etapas iniciais o controle do pH é essencial para favorecer o crescimento das microalgas no meio, pois devido ao sistema ser aberto bactérias e fungos provenientes do ambiente podem estar presentes e atuarem inibindo o crescimento microalgal uma vez que bactérias e fungos crescem melhor em pH ácido-neutro, enquanto as microalgas em alcalino. Por fim, como complemento para as problemáticas e limitações observadas neste estudo, sugere-se para trabalhos futuros o desenvolvimento de pesquisas para ampliação de escala do sistema semicontínuo apresentado, maiores tempos de realimentação, utilização de aeração, maiores valores de concentração do efluente e o consorcio de microalga e fungo.

## REFERÊNCIAS

- ABELIOVICH, A.; AZOV, Y. Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 31, p. 801–806, June 1976. American Society for Microbiology Journals. <https://doi.org/10.1128/aem.31.6.801-806.1976>.
- ABREU, A. P.; FERNANDES, B.; VICENTE, A. A.; TEXEIRA, J.; DRAGONE, G. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 61-66, August 2012. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.055>.
- AHMAD, T.; AADIL, R. M.; AHMED, H.; RAHMAN, U.; SOARES, B. CV.; 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. 2019. Treatment and utilization of dairy industrial waste: a review. **Trends Food Science & Technology**, v. 88, June, p. 361-372, June. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.003>.
- ANDRADE, F. P. **Produção de biomassa microalgal a partir do soro do leite visando a produção de bioetanol**. 2019. Dissertação (Mestrado) – Curso de Energia da Biomassa, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2019.
- AKANSHA, J.; NIDHEESH, P. V.; GOPINATH, A.; ANUPAMA, K. V.; KUMAR, S. M. 2020. Treatment of dairy industry wastewater by combined aerated electrocoagulation and phytoremediation process. **Chemosphere**, v. 253, p. 126652, August. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126652>.
- AMINI, E.; BABAEI, A.; MEHRNIA, M. R.; SHAYEGAN, J.; SAFDARI, M. S. Municipal wastewater treatment by semi-continuous and membrane algal-bacterial photo-bioreactors. **Journal of Water Process Engineering**, v. 36, 101274, 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101274>.
- AMINI, M.; YOUNESI, H.; LORESTANI, A. A. Z.; NAJAFPOUR, G. Determination of optimum conditions for dairy wastewater treatment in UAASB reactor for removal of nutrients. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 71-79, October. 2013. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.111>.

ANDRADE, L. H.; MENDES, F. D. S.; ESPINDOLA, J. C.; AMARAL, M. C. S. Nano filtration as tertiary treatment for the reuse of dairy wastewater treated by membrane bioreactor. **Separation and Purification Technology**, v. 126, p. 21-29, April. 2014. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.01.056>.

AOAC. Official methods of analysis of AOAC international. Ed. 18, Maryland: Gaithersburg, USA, 2005.

ARMC. Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand. National Water Quality Management Strategy: Effluent Management Guidelines for Dairy Processing in Australia, Canberra, (1999), p. 1–40.

BAHMAN, M.; AGHANOORI, M.; JALILI, H.; BOZORG, A.; DANAEI, S.; BIDHENDI, M. E.; AMRANE, A. Effect of light intensity and wavelength on nitrogen and phosphate removal from municipal wastewater by microalgae under semi-batch cultivation. **Environmental Technology**, v. 43, issue 9, p. 1352-1358, oct. 2020. Taylor & Francis Online. <https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1829087>

BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, issues 1-3, p. 381-386, September. 2011. Elsevier B. V. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.05.055>.

BEHARA, B.; ACHARYA, A.; GARGEY, I. A.; ALY, N.; BALASUBRAMANIAN, P. Bioprocess engineering principles of microalgal cultivation for sustainable biofuel production. **Bioresource Technology Reports**, v. 5, p. 297-316, February. 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.08.001>.

BELLOU, S.; BAESHEN, M. N.; ELAZZAZY, A. M.; AGGELI, D.; SAYECH, F.; AGGELIS, G. Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives. **Biotechnology Advances**, v. 32, issue 8, p. 1476–1493, dec. 2014. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.003>.

BENTAHAR, J.; DOYEN, A.; BEAULIEU, L.; DESCHÊNES, J. Acid whey permeate: An alternative growth medium for microalgae *Tetrademus obliquus* and production of  $\beta$ -galactosidase. **Algal Research**, v. 41, 101559, August 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101559>.



- BIRWAL, P.; DESHMUKH, G.; PRIYANKA.; SAURABH, S. P. (2017) Advanced technologies for dairy effluent treatment. *J Food Nutr Popul Health* 1:1–5
- BLONSKAJA, V.; VAALU, T., Investigation of different schemes for anaerobic treatment of food industry wastes in Estonia. **Proceedings of the Estonian Academy of Sciences of Chemical**, v. 55, issue 1, p. 14-28, 2006. [10.3176/quim.2006.1.02](https://doi.org/10.3176/quim.2006.1.02).
- BONETT, J. E. A.; GERALDINO, P. S.; CARDOSO, P. G.; COELHO, F. F.; DUARTE, W. F. Isolation of freshwater microalgae and outdoor cultivation using cheese whey as substrate. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, p. 101799, October. 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101799>.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, issue 2, p. 557-577, Feb. 2010. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>.
- BREWER, A. J.; CUMBY, T. R.; DIMMOCK, S. J. Dirty water from dairy farms, I: biochemical characteristics. **Bioresource Technology**, v. 67, issue 2, p. 155–160, February. 1999. Elsevier Science. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00104-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00104-7).
- BUONO, S.; COLUCCI, A.; ANGELINI, A.; LANGELLOTTI, A. L.; MASSA, M.; MARTELLO, A.; FOGLIANO, V.; DIBENEDETTO, A. Productivity and biochemical composition of *Tetrademus obliquus* and *Phaeodactylum tricorutum*: effects of different cultivation approaches. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, p. 3179-3192, 2016. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0876-6>.
- CAI, T.; PARK, S. Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 19, p. 360-369, March 2013. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.11.030>.
- CANNON, A. D.; GRAY, K. R.; BIDDLESTONE, A. J.; THAYANITHY, K. SE – structures and environment: Pilot-scale development of a bioreactor for the treatment of dairy dirty water. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 77, issue 3, p. 327–334, November. 2000. Elsevier. <https://doi.org/10.1006/jaer.2000.0595>.

CARVALHO, F.; PRAZERES, A. R.; RIVAS, J. Cheese whey wastewater: characterization and treatment. **Science of the Total Environment**, v. 445–446, p. 385–396, February. 2013. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.038>.

CAUTTEAU, P. Algal production. In P. Lavens & P. Sorgeloos (Eds.), Manual on the production and use of live food for aquaculture. **Food and Agriculture Organization**, p. 10-30, 1996, Roma. Disponível em: <https://www.fao.org/3/w3732e/w3732e00.htm>.

CHEN, C. Y.; KUO, E. W.; NAGARAJAN, D.; DONG, C. D.; LEE, D. J.; VARJANI, S.; LAM, S. S.; CHANG, J. S. Semi-batch cultivation of *Chlorella sorokiniana* AK-1 with dual carriers for the effective treatment of full strength piggery wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 326, 124773, April 2021. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124773>.

CHEN, C.; YEH, K.; AISYAH, R.; LEE, D.; CHANG, J. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, issue 1, p. 71–81, Jan. 2011. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.159>.

CHEW, K. W.; CHIA, S. R.; SHOW, P. L.; YAP, Y. J.; LING, T. C.; CHANG, J. Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 91, p. 332-344, October 2018. Elsevier B. V. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.05.039>.

CHOI, H. J. Dairy wastewater treatment using microalgae for potential biodiesel application. **Environmental Engineering Research**, v. 21, issue 4, p. 393-400, August. 2016. Korea Science. <https://doi.org/10.4491/eer.2015.151>.

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, 110689, April 2021. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110689>.

CORDI, L.; ALMEIDA, E. S.; ASSALIN, M. R.; DURAN, N. Intumescimento Filamentoso no Processo de Lodos Ativado Aplicado ao Tratamento de Soro de Queijo: Caracterização e Uso de Floculantes para melhorar a Sedimentabilidade. **Engenharia Ambiental-Espírito Santo do Pinhal**, v. 4, issue 2, p. 26-37.

CUELLAR-BERMUDEZ, S. P.; ALEMAN-NAVA, G. S.; CHANDRA, R.; GARCIA-PEREZ, J. S.; CONTRERAS-ANGULO, J. R.; MARKOU, G.; MUYLAERT, K.; RITTMANN, B. E.; PARRA-SALDIVAR, R. Nutrients utilization and contaminants removal. A review of two approaches of algae and cyanobacteria in wastewater. **Algal Research**, v. 24, part B, p. 438-449, June. 2017. Elsevier B. V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.08.018>.

DA FONTOURA, J. T.; ROLIM, G. S.; FARENZENA, M.; GUTTERRES, M. Influence of light intensity and tannery wastewater concentration on biomass production and nutrient removal by microalgae *Scenedesmus sp.* **Process Safety and Environmental Protection**, v. 111, p. 355-362, Oct. 2017. Elsevier B. V. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psep.2017.07.024>.

DANG, T. C.; FUJII, M.; ROSE, A. L.; BIIGH, M.; WALTE, T. D. Characteristics of the Freshwater Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Grown in Iron-Limited Continuous Culture. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, issue 5, February 2012. American Society for Microbiology Journal. <https://doi.org/10.1128/AEM.06908-11>.

DE FARIAS SILVA, C. E.; SFORZA, E. Carbohydrate productivity in continuous reactor under nitrogen limitation: Effect of light and residence time on nutrient uptake in *Chlorella vulgaris*. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 12, p. 2112–2118, 2016. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.09.015>.

DEMIREL, B.; YENIGUN, O.; ONAY, T. T. Anaerobic treatment of dairy wastewaters: A review. **Process Biochemistry**, v. 40, issue 8, p. 2583-2595, July. 2005. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.12.015>.

DEOWAN, S. A.; BOUHAJDAR, S. I.; HOINKIS, J. **Membrane bioreactors for water treatment. Advances in Membrane Technologies for water Treatment: Materials, Processes and Applications.** A volume in Woodhead Publishing Series in Energy. P. 155-184, 2015. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-121-4.00005-8>.

DRAGONE, G.; MUSSATO, S. I.; OLIVEIRA, J. M.; TEXEIRA, J. A. Characterization of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. **Food Chemistry**, v. 112, issue 4, p. 929-935, February. 2009. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.005>.

ERGÜDER, T. H.; TEZEL, U.; GÜVEN, E.; DEMIRER, G. N. Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. **Waste**

**Management**, v. 21, issue 7, p. 643-650, 2001. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0956-053X\(00\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0956-053X(00)00114-8).

ESCAPA, C.; COIMBRA, R. N.; PANIAGUA, S.; GARCÍA, A. I.; OTERO, M. Comparison of the culture and harvesting of *Chlorella vulgaris* and *Tetrademus obliquus* for the removal of pharmaceuticals from water. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, p. 1179-1193, 2017. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-1010-5>.

European Union Legislation. Council Directive 91/271/EEC of 21 May 1991 concerning urban waste-water treatment. **Official Journal L 135**, 30/05/1991 p. 40.

EUSTANCE, E.; BADVIPOUR, S.; WRAY, J. T.; SOMMERFELD, M. R. Biomass productivity of two *Scenedesmus* strains cultivated semi-continuously in outdoor raceway ponds and flat-panel photobioreactors. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, p. 1471-1483, 2016. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0710-6>.

EVANS, L.; HENNIGE, S. J.; WILLOUGHBY, N.; ADELOYE, A. J.; SKROBLIN, M.; GUTIERREZ, T. Effect of organic carbon enrichment on the treatment efficiency of primary settled wastewater by *Chlorella vulgaris*. **Algal Research**, v. 24, part A, p. 368-377, June 2017. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.011>.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Dairy Market Review: Overview of global dairy market developments in 2020. Rome, p 13, April 2021a. Disponível em: <https://www.fao.org/publications/card/en/c/CB4230EN/>. Acesso em 01 March 2021.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Dairy Market Review: Emerging trends and outlook, December 2021. Rome, December 2021b. Disponível em: <https://www.fao.org/markets-and-trade/publications/detail/en/c/1469352/>. Acesso em 21 September 2022.

FARIZOGLU, B.; KESKINLER, B. YILDIZ, E.; NUHOGLU, A. Simultaneous removal of C, N, P from cheese whey by jet loop membrane bioreactor (JLMBR). *Journal of Hazardous Materials*, v. 146, issue 1-2, p. 399-407, July 2007. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.12.051>.

FERNÁNDEZ-LINARES, L. C.; GUTIÉRREZ-MÁRQUEZ, A.; GUERRERO-BARAJAS, C. Semi-continuous culture of a microalgal consortium in open ponds under greenhouse

- conditions using piggery wastewater effluent. *Bioresource Technology Reports*, v. 12, 100597, December 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100597>.
- FERREIRA, A.; MARQUESA, P.; RIBEIRO, B.; ASSEMANY, P.; MENDONÇA, H. V.; BARATA, A.; OLIVEIRA, A. C.; REIS, A.; PINHEIRO, H. M.; GOUVEIA, L. Combining biotechnology with circular bioeconomy: From poultry, swine, cattle, brewery, dairy and urban wastewaters to biohydrogen. *Environmental Research*, v. 164, p. 32–38, July 2018. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.02.007>.
- FINNEGAN, W.; CLIFFORD, E.; GOGGINS, J.; O'LEARY, N.; DOBSON, A.; ROWAN, N.; XIAO, L.; MIAO, S.; FITZHENRY, K.; LEONARD, P. DairyWater: Striving for sustainability within the dairy processing industry in the Republic of Ireland. *Journal of Dairy Research*, v. 85, issue 3, p. 366–374, August. 2018. Hannah Dairy Research Foundation 2018. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000614>.
- FITZSIMONS, S. M.; MULVIHILL, D. M.; MORRIS, E. R. Denaturation and aggregation processes in thermal gelation of whey proteins resolved by differential scanning calorimetry. *Food Hydrocolloids*, v. 11, issue 4, p. 638-644, June. 2007. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.07.007>.
- FRANCISI, D.; SU, Y.; LITAL, A.; ANGELIDAKI, I. Evaluation of microalgae production coupled with wastewater treatment. *Environmental Technology*, v. 39, issue 5, p. 581-592, March 2017. Taylor & Francis Online. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1308441>
- FRIGON, J. C.; BRETON, J.; BRUNEAU, T.; MOLETTA, R.; GUIOT, S.R. The treatment of cheese whey wastewater by sequential anaerobic and aerobic steps in a single digester at pilot scale. *Bioresource Technology*, v. 100, issue 18, p. 4156-4163, 2009. Elsevier <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.077>.
- GANNOUN, H.; KHELFI, E.; BOUALLAGUI, H.; TOUHAMI, Y.; HAMDY, M. Ecological clarification of cheese whey prior to anaerobic digestion in upflow anaerobic filter. *Bioresource Technology*, v. 99, issue 14, p. 6105-6111, September 2008. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.037>.
- GHALY, A. E. A comparative study of anaerobic digestion of acid cheese whey and dairy manure in a two-stage reactor. *Bioresource Technology*, v. 58, issue 1, p. 61-72, 1996. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(96\)00105-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(96)00105-8).

GIRARD, J. M.; ROY, M. L.; HAFSA, M. B.; GAGNON, J.; FAUCHEUX, N.; HEITZ, M.; TREMBLAY, R.; DESCHÊNES, J. S. Mixotrophic cultivation of green microalgae *Scenedesmus obliquus* on cheese whey permeate for biodiesel production. **Algal Research**, v. 5, p. 241-248, July 2014. Elsevier B. V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.03.002>.

GIROTO, J.M.; PAWLOWSKY, U. O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento. **Brasil Alimentos**, v.2, n. 10, p. 43-46. 2001.

GÖBLÖS, S.; PORTÖRÖ, P.; BORDÁS, D.; KÁLMÁN, M.; KISS, I. Comparison of the effectivities of two-phase and single-phase anaerobic sequencing batch reactors during dairy wastewater treatment. **Renewable Energy**, v. 33, issue 5, p. 960-956, May. 2008. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2007.06.006>.

GONZÁLEZ-CAMEJO, J.; RUANO, M. V.; BORRÁS, L.; BARAT, R.; FERRER, J. Effect of ambient temperature variations on an indigenous microalgae-nitrifying bacteria culture dominated by *Chlorella*. **Bioresource Technology**, v. 290, 121788, October 2019. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121788>.

GOV.BR. GOVERNO DO BRASIL. Valor da produção agropecuária de 2021 atinge R\$ 1,129. 14 de janeiro 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/agricultura-e-pecuaria/2022/01/valor-da-producao-agropecuaria-de-2021-atinge-r-1-129-trilhao> . Acesso em: 06 de novembro de 2022.

GUTIÉRREZ, J. L. R.; ENCINA, P. A. G.; FDZ-POLANCO, F. Anaerobic treatment of cheese-production wastewater using a UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 37, issue 3, p. 271-276, 1991. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(91\)90194-O](https://doi.org/10.1016/0960-8524(91)90194-O).

GÜVEN, G.; PERENDECI, A.; TANYOLAÇ, A. Electrochemical treatment of deproteinated whey wastewater and optimization of treatment conditions with response surface methodology. *Journal of Hazardous Materials*, v. 157, issue 1, p. 69-78, August. 2008. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.12.082>.

HARWATI, T. U.; WILLKE, T; VORLOP, K. D. Characterization of the lipid accumulation in a tropical freshwater microalgae *Chlorococcum* sp. **Bioresource Technology**, v. 121, p.:54–60, Oct. 2012. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.098>.

HOH, D.; WATSON, S.; KAN, E. Algal biofilm reactors for integrated wastewater treatment and biofuel production: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 287, p. 466-473, March 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.11.062>

HOSSAIN, N.; MAHLIA, T. M. I. Progress in physicochemical parameters of microalgae cultivation for biofuel production. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 39, issue 6, p. 835-859, May. 2019. Taylor & Francis Online. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1624945>

HU, Q. Environmental Effects on Cell Composition. **Handbook of Microalgal Culture: applied phyecology and biotechnology**, 2. ed., New Delhi, India, p. 114-122, 2003. <https://doi.org/10.1002/9780470995280.ch5>

HUANG, J. J.; LIN, S.; XU, W.; CHEUNG, P. C. K. Occurrence and biosynthesis of carotenoids in phytoplankton. **Biotechnology Advances**, v. 35, issue 5, p. 597-618, September 2017. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.05.001>

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa da pecuária municipal. 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=destaques>. Acesso em: 06 março de 2022.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa da pecuária municipal. 2021a. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=destaques>. Acesso em: 06 novembro de 2022.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geologia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. 2021b. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101742.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2021.

ISHAQ, A. G.; MATIAS-PERALTA, H. M.; BASRI, H. Bioactive compounds from green microalga – *Scenedesmus* and its potential applications: a brief review. **Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science**, v. 39, p. 1–16, 2016.

JANCZUKOWICZ, W.; ZIELÍNSKI, M.; DEBOWSKI, M. Biodegradability evaluation of dairy effluents originated in selected sections of dairy production. **Bioresource Technology**, v. 99, issue 10, p. 4199-4205, July 2008. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.077>



JELLEN, P. Whey processing: Utilization and products. In **Encyclopedia of Dairy Sciences**, p. 2739–2745. New York: Academic Press. 2003. Elsevier Science.

<https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00511-3>

KARADAG, D.; KÖROĞLU, O. E.; OZKAYA, B.; CAKMAKCI, M. A review on anaerobic biofilm reactors for the treatment of dairy industry wastewater. *Process Biochemistry*, v. 50, issue 2, p. 262-271, February 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.11.005>.

KASMI, M.; DJEBALI, K.; HAMDI, M.; TRABELSI, I. Physical–chemical treatment process optimization for high polluting dairy effluents prior fermentation. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 15, p. 779-790, 2018. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1438-4>.

KASPAR, H. F.; KEYS, E. F.; KING, N.; SMITH, K. F.; KESARCODIWATSON, A.; MILLER, M. R.; Continuous production of *Chaetoceros calcitrans* in a system suitable for commercial hatcheries. **Aquaculture**, v. 420-421, p. 1-9, Jan. 2014. Elsevier B. V. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.021>.

KHOZIN-GOLDBERG, I.; ISKANDAROV, U.; COHEN, Z. LC-PUFA from photosynthetic microalgae: occurrence, biosynthesis, and prospects in biotechnology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, p. 905–915, 2011. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3441-x>.

KONG, F.; REN, H. Y.; ZHAO, L.; NAN, J.; REN, N. Q.; LIU, B. F.; MA, J. Semi-continuous lipid production and sedimentation of *Scenedesmus* sp. by metal ions addition in the anaerobic fermentation effluent. **Energy Conversion and Management**, v. 203, 112216, January 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2019.112216>.

KOTHARI, R.; PRASAD, R.; KUMAR, V.; SINGH, D. P. Production of biodiesel from microalgae *Chlamydomonas polypyrenoideum* grown on dairy industry wastewater. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 499-503, Sep. 2013. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.116>.

KUMAR, S.; GUPTA, N.; PAKSHIRAJAN, K. Simultaneous lipid production and dairy wastewater treatment using *Rhodococcus opacus* in a batch bioreactor for potential biodiesel application. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 3, issue 3, p. 1630-1636, September 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.05.030>.



KUSHWAHA, J. P.; SRIVASTAVA, V. C.; MALL, I. D. An overview of various technologies for the treatment of dairy wastewaters. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 51, issue 5, p. 442-452, 2011. Taylor & Francis Online.

<https://doi.org/10.1080/10408391003663879>.

LABBÉ, J. I.; RAMOS-SUÁREZ, J. L.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, A.; BAEZA, A.; HANSEN, F. Microalgae growth in polluted effluents from the dairy industry for biomass production and phytoremediation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 5, issue 1, Feb. 2017, p. 635-643. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.040>.

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, 125008, 2021. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125008>.

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. Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121934>.

LI, Y.; CHEN, P.; CHEN, Y.; MIN, M.; ZHOU, W.; MARTINEZ, B.; ZHU, J.; RUAN, R. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology*, v. 136, p. 5138-5144, 2011. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.091>.

LIRA, H. L.; SILVA, M. C. D.; VASCONCELOS, M. R. S.; LIRA, H. L.; LOPEZ, A. M. Q. Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membranas cerâmicas como alternativa ao processo de pasteurização. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, n. 1, p. 33-37, Campinas, Jan./Mar. 2009. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000100006>.

LIU, G.; XIONG, Y. L.; BUTTERFIELD, D. A. Chemical, physical, and gel forming properties of oxidized myofibrils and whey and soy proteins isolate. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 65, issue 5, p. 811-818, 2000. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb13592.x>.

LIU, J.; YIN, J.; GE, Y.; HAN, H. LIU, M.; GAO, F.; Improved lipid productivity of *Scenedesmus obliquus* with high nutrient removal efficiency by mixotrophic cultivation in actual municipal wastewater. *Chemosphere*, v. 285, 131475, Dec. 2021. Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131475>.

LIZZUL, A. M.; HELLIER, P.; PURTON, S.; BAGANZ, F.; LADOMMATOS, N.; CAMPOS, L. Combined remediation and lipid production using *Chlorella sorokiniana* grown on wastewater and exhaust gases. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 151, p. 12-18, 2014. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.040>.

LU, W.; WANG, Z.; WANG, X.; YUAN, Z. Cultivation of *Chlorella* sp. using raw dairy wastewater for nutrient removal and biodiesel production: Characteristics comparison of indoor bench-scale and outdoor pilot-scale cultures. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 382-388, Sep. 2015. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.094>.

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, May 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.01.025>.

MANSOORIAN, H. J.; MAHVI, A. H.; JAFARI, A. J.; KHANJANI, N. Evaluation of dairy industry wastewater treatment and simultaneous bioelectricity generation in a catalyst-less and mediator-less membrane microbial fuel cell. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 20, issue 1, p. 88–100, January 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2014.08.002>.

MARTÍNEZ-SULLER, L.; PROVOLO, G.; CARTON, O. T.; BRENNAN, D.; KIRWAN, L. The composition of dirty water on dairy farms in Ireland. **Irish Journal of Agriculture and Food Research**, v. 49, n. 1, p. 67–80, 2010.

MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G. Mass Cultivation of Freshwater Microalgae. **Encyclopedia of Ecology**, v. 5, p. 2226–2235, 2008. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00830-2>.

MATA, T. M.; MARTINS, A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, issue 1, p. 217-232, Jan. 2010. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>.

MEDEIROS, J. A. **Biorremediação do soro do leite utilizando consórcio microalga-fungo**. 2022. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2022.

- MOCKAITIS, G.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity. **Journal of Environmental Management**, v. 79, ed. 2, p. 198-206, April 2006. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2005.07.001>.
- 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. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101541>.
- MOULIN, G.; GALZY, P. Whey, a potential substrate for biotechnology. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 1, issue 1, p. 347–374, 1984. Taylor & Francis Online. <https://doi.org/10.1080/02648725.1984.10647790>.
- OKABE, S.; AOI, Y.; SATOH, H.; SUWA, Y. Nitrification in Wastewater Treatment. In M. G. Klotz, B. B. Ward, D. J. Arp, and American Society for Microbiology (Eds.), **Nitrification**, P. 405-433, March 2011, Washington, DC: ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817145.ch16>.
- OMIL, F.; GARRIDO, J. M.; ARROJO, B.; MÉNDEZ, R. Anaerobic filter reactor performance for the treatment of complex dairy wastewater at industrial scale. **Water Research**, v. 37, issue 17, p. 4099–4108, October 2003. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00346-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00346-4).
- PANESAR, P. S.; KENNEDY, J. F. Biotechnological approaches for the value addition of whey. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 32, issue 4, p. 327–348, July 2011. Taylor & Francis Online. <https://doi.org/10.3109/07388551.2011.640624>
- PANESAR, P.S.; KENNEDY, J.F.; GANDHI, D.N.; BUNKO, K. Bioutilisation of whey for lactic acid production. **Food Chemistry**, v. 105, ed. 1, issue 1, p. 1-14, 2007. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.035>.
- PARSONS, T. R.; STEPHENS, K.; STRICKLAND, J. D. H. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. **Journal of the Fisheries Board of Canada**, v. 18, n. 6, p. 1001–1016, 1961. <https://doi.org/10.1139/f61-063>.
- PATEL, P.; DESAI, M.; MADAMWAR, D. Biomethanation of cheese whey using anaerobic upflow fixed film reactor. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 79, issue 4, p. 398-399, 1995. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(95\)94006-D](https://doi.org/10.1016/0922-338X(95)94006-D)

PATHAK, U.; DAS, P.; BANERJEE, P.; DATTA, S. Treatment of Wastewater from a Dairy Industry Using Rice Husk as Adsorbent: Treatment Efficiency, Isotherm, Thermodynamics, and Kinetics Modelling. **Journal of Thermodynamics**, v. 2016, 3746316, 2016. Hindawi.

<https://doi.org/10.1155/2016/3746316>

PAWAR, S. Effectiveness mapping of open raceway pond and tubular photobioreactors for sustainable production of microalgae biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 62, p. 640-653, September 2016. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.04.074>

PEREIRA, M. V.; DASSLER, A. F.; ANTUNES, P. W.; GONÇALVES, R. F.; CASSINI, S. T. Indigenous microalgae biomass cultivation in continuous reactor with anaerobic effluent: effect of dilution rate on productivity, nutrient removal and bioindicators. *Environmental Technology*, v. 41, issue 14, p. 1780-1792, no. 2018. Taylor & Francis Online.

<https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1549105>

PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **Water Research**, v. 45, issue 1, p. 11-36, Jan. 2011. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.037>.

PIRES, T. A.; CARDOSO, V. L.; BATISTA, F. R. X. Feasibility of *Chlorella vulgaris* to waste products removal from cheese whey. **International Journal of Environmental Science Technology**, v. 19, p. 4713–4722, June 2021. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03423-x> .

PITTMAN, J. K.; DEAN, A. P.; OSUNDEKO, O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. **Bioresource Technology**, v. 102, issue 1, p. 17-25, Jan. 2011. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.035>

PRAZERES, A. R.; CARVALHO, F.; RIVAS, F. J. Cheese whey management: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 110, p. 48-68, November 2012. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.018>.

RAD, S. J.; LEWIS, M. J. Water utilization, energy utilization and waste water management in the dairy industry: a review. **International Journal of Dairy Technology**, v. 67, ed. 1, p. 1-20, February 2014. SDT Society of Dairy Technology. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12096>.

RASHID, N; UR REHMAN, M. S.; SADIQ, M.; MAHMOOD, T.; HAN, J. Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 40, p. 760-778, December 2014. Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.10.004>

RAZZAK, S. A.; ALI, S. A.; HOSSAIN, M. M.; DELASA, H. Biological CO<sub>2</sub> fixation with production of microalgae in wastewater – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 379–390, Sep. 2017. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.02.038>

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.J.B.W.; WATERBURY, J.B.; HERDMAN, M.; STANIER, R.Y. Generic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria. **Microbiology-sgm**. v. 111, p. 1-61, 1979. <https://doi.org/10.1099/00221287-111-1-1>.

RODRIGUES, D. A. S.; CUNHA, C. C. R. F.; FREITAS, M. G.; BARROS, A. L. C.; CASTRO, P. B. N.; PEREIRA, A. R.; SILVA, S. Q.; SANTIAGO, A. F.; AFONSO, R. J. C. F. Biodegradation of sulfamethoxazole by microalgae-bacteria consortium in wastewater treatment plant effluents. **Science of The Total Environment**, V. 749, 141441, December 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141441>.

RUIZ-MARIN, A.; MENDOZA-ESPINOSA, L. G.; STEPHENSON, T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. **Bioresource Technology**, v. 101, issue 1, p. 58-64, Jan. 2010. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.076>.

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. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.013>.

SALATI, S.; D'IMPORZANO, G.; MENIN, B.; VERONESI, D.; SCAGLIA, B.; ABBRUSCATO, P.; MARIANI, P.; ADANI, F. Mixotrophic cultivation of *Chlorella* for local protein production using agro-food by-products. **Bioresour Technol**, v. 230, p. 82–89, 2017. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.030>.

SALGUEIRO, J. L.; PPÉREZ, L.; MACEIRAS, R.; SÁNCHEZ, A.; CANCELA, A. Semicontinuous Culture of *Chlorella vulgaris* Microalgae for Wastewater Treatment. **International Journal of Environmental Research**, v. 12, p. 765-772, 2018. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/s41742-018-0129-4>.

SAMORÌ, G.; SAMORÌ, C.; PISTOCCHI, R. Nutrient Removal Efficiency and Physiological Responses of *Desmodesmus communis* at Different HRTs and Nutrient Stress Condition Using Different Sources of Urban Wastewater Effluents. **Appl Biochem Biotechnol**, [s.l.], v. 173, p. 74-89, mar. 2014. Springer. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0792-7>.

SAYED, S.; ZANDEN, J. V. D.; WIJFFELS, R.; LETTINGA, G. Anaerobic degradation of the various fractions of slaughterhouse wastewater. **Biological Wasters**, v. 23, issue 2, p. 117-142, 1988. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(88\)90069-9](https://doi.org/10.1016/0269-7483(88)90069-9).

SHI, W.; HEALY, M. G.; ASHEKUZZAMAN, S. M.; DALY, K.; LEAHY, J. J.; FENTON, O. Dairy processing sludge and co-products: a review of present and future re-use pathways in agriculture. **Journal of Cleaner Production**, v. 314, 128035, September 2021. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128035>.

SILVA, C.E.F.; OLIVEIRA, R. B.; CARVALHO, C. M.; CARVALHO, F. O.; TONHOLO, J. Microalgae and Wastewaters: From Ecotoxicological Interactions to Produce a Carbohydrate-Rich Biomass Towards Biofuel Application. **Application of Microalgae in Wastewater Treatment**, v. 2, cap. 21, p. 495-529, May 2019. Springer Link. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-13909-4\\_21](https://doi.org/10.1007/978-3-030-13909-4_21).

SINHA, S.; SRIVASTAVA, A.; MEHROTRA, T.; SINGH, R. A review on the dairy industry waste water characteristic, its impact on environment and treatment possibilities. In: Emerging Issues in Ecology and Environmental Science. **Springer Briefs in Environmental Science**. P. 73-84, October 2019. Springer Link. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-99398-0\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-99398-0_6).

SISO, G. M. I. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. **Bioresource Technology**, v. 57, issue 1, p. 1-11, 1996. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00036-3](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00036-3).

SMITH, V. H.; JOYE, S. B.; HOWARTH, R. H. Eutrophication of freshwater and marine ecosystems, *Limnol. Oceanogr.* v. 51, p. 351–355, 2006. American Society of Limnology and oceanography. [https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.1\\_part\\_2.0351](https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.1_part_2.0351).

SOLÍS-SALINA, C. E.; PATLÁN-JUAREZ, G.; OOKOYE, P. U.; GUILLÉN-GARCÉS, A.; SEBASTIAN, P.J.; ARIAS, D. M. Long-term semi-continuous production of carbohydrate-enriched microalgae biomass cultivated in low-loaded domestic wastewater. **Science of The**

**Total Environment**, v. 798, 149227, December 2021. Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149227>.

SONG, M., PEI, H. The growth and lipid accumulation of *Scenedesmus quadricauda* during batch mixotrophic/heterotrophic cultivation using xylose as a carbon source. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 525-531, Sep. 2018. Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.020>.

SONMEZ, C.; ELCIN, E.; AKIN, D.; OKTEM, H. A.; YUCEL, M. Evaluation of novel thermo-resistant *Micractinium* and *Scenedesmus sp.* for efficient biomass and lipid production under different temperature and nutrient regimes. **Bioresource Technology**, v. 211, p. 422-428, Jul. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.125>.

STANCHEV, P.; VASILAKI, V.; EGAS, D.; COLON, J.; PONSÁ, S.; KATSOU, E. Multilevel environmental assessment of the anaerobic treatment of dairy processing effluents in the context of circular economy. **Journal of Cleaner Production**, v. 261, p. 121139, July 2020. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121139>.

SVALOV, A. K. General characteristics and treatment possibilities of dairy wastewater – a review. **Food Technology & Biotechnology**, v. 55, issue 1, p. 14–28, March 2017. DOI: [10.17113/ftb.55.01.17.4520](https://doi.org/10.17113/ftb.55.01.17.4520).

TAN, X. B.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; LIM, J. W.; WONG, C. Y.; RAMLI, A.; KIEW, P. L.; LEE, K. T. Semi-continuous cultivation of *Chlorella vulgaris* using chicken compost as nutrients source: Growth optimization study and fatty acid composition analysis. **Energy Conversion Management**, v. 164, p. 363–373, May 2018. Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.03.020>.

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. **Bioresource Technology journal**, v. 304, 2020. Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122997>.

TSOLCHA, O. N.; TEKERLEKOPOULOU, A. G.; AKRATOS, C. S.; BELLOU, S.; AGGELIS, G.; KATSIAPI, M.; MOUSTAKA-GOUNI, M.; VAYENAS, D. V. Treatment of second cheese whey effluents using a Choricystis-based system with simultaneous lipid production. **Journal of Chemical Technology Biotechnology**, v. 91, p. 2349–2359, October 2016. Wiley. <https://doi.org/10.1002/jctb.4829>.



UMAMAHESWARI, J.; SHANTHAKUMAR, S. Efficacy of microalgae for industrial wastewater treatment: a review on operating conditions, treatment efficiency and biomass productivity. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 15, p. 265-284, 2016. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9397-7>.

VALTA, K.; DAMALA, P.; ANGELI, E.; ANTONOPOULOU, G.; MALAMIS, D.; HARALAMBOUS, K. J. Current Treatment Technologies of Cheese Whey and Wastewater by Greek Cheese Manufacturing Units and Potential Valorisation Opportunities. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, p. 1649-1663, 2017. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9862-8>.

VAZIRZADEH, A.; JAFARIFARD, K.; AJDARI, A.; CHISTI, Y. Removal of nitrate and phosphate from simulated agricultural runoff water by *Chlorella vulgaris*. **Science Of The Total Environment**, v. 802, issue 1, p. 149988, Ago. 2021. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149988>.

VIDAL, G.; CARVALHO, A.; LEMA, J. M. Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters. *Bioresource Technology*, v. 74, issue 3, p. 231-239, Sep. 2000. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00015-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00015-8).

VU, C. H. T.; LEE, H.; CHANG, Y. K.; OH, H. Axenic cultures for microalgal biotechnology: Establishment, assessment, maintenance, and applications. **Biotechnology Advances**, v. 36, issue 2, p. 380-396, march-April 2018. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.018>.

WANG, L.; WANG, L.; MANZI, H. P.; YANG, Q.; GUO, Z.; ZHENG, Y.; LIU, X.; SALAMA, E. Isolation and screening of *Tetrademus dimorphu* and *Desmodesmus asymmetricus* from natural habitats in Northwestern China for clean fuel production and N, P removal. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 12, p. 1503–1512, 2022. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01034-z>.

WHO. World Health Organization. **Codex alimentarius international food standards: general standard for food additives codex stan 192-1995**. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/gsfa/en/>. Acesso em: 20 junho 2021.



WYNNE, M. J.; HALLAN, J. K. Reinstatement of *Tetradesmu* G. M. Smith (Sphaeropleales, Chlorophyta). **Feddes Repertorium**, v. 126, issue 3-4, p. 83-86, Jan. 2016. Willey Online. <https://doi.org/10.1002/fedr.201500021>.

XIN, L.; HONG-YING, H.; YU-PING, Z. Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. under different cultivation temperature. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3098–3102, 2011. Elsevier B. V. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.055>.

YADAV, G.; SEN, R. Microalgal green refinery concept for biosequestration of carbon-dioxide vis-à-vis wastewater remediation and bioenergy production: Recent technological advances in climate research. **Journal of CO2 Utilization**, v. 17, p. 188–206, Jan. 2017. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2016.12.006>.

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. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.036>.

YE, S.; GAO, L; ZHAO, J.; AN, M.; WU, H.; LI, M. Simultaneous wastewater treatment and lipid production by *Scenedesmus* sp. HXY2. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 302, Jan. 2020. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122903>.

YIN, Z.; ZHU, L.; LI, S.; HU, T.; CHU, R.; MO, F.; HU, D.; LIU, C.; LI, B. A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions. **Bioresource Technology**, v. 301, p. 122804, April 2020. Elsevier B. V. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122804> .

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, July 2018. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.103>.

ZHU, L. Microalgal culture strategies for biofuel production: a review. **Biofuel Bioproducts Biorefining**, v. 9(6), p. 801-814, Nov./ Dec. 2015. Wiley. <https://doi.org/10.1002/bbb.1576>.

ZHU, L.; WANG, Z.; SHU, Q.; TAKALA, J.; HILTUNEN, E.; FENG, P.; YUAN, Z. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with

piggery wastewater treatment. **Water Research**, v. 47, issue 13, p. 4294-4302, Sep. 2013a. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.004>.

ZHU, L.; WANG, Z.; TAKALA, J.; HILTUNEN, E.; LEI, Q.; XU, Z.; QIN, X.; YUAN, Z. Scale-up potential of cultivating *Chlorella zofingiensis* in piggery wastewater for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 137, issue 11, p. 318-325, June 2013b. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.144>.