



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

GABRIELLY KARLA SILVA SANTOS

**INFLUÊNCIA DA CARGA ORGÂNICA, INTENSIDADE LUMINOSA E AERAÇÃO  
NO TRATAMENTO DO EFLUENTE DE LATICÍNIOS PELO CONSÓRCIO**

*Tetrademus obliquus* E *Cladosporium halotolerans*

MACEIÓ – AL  
2025

GABRIELLY KARLA SILVA SANTOS

**INFLUÊNCIA DA CARGA ORGÂNICA, INTENSIDADE LUMINOSA E AERAÇÃO  
NO TRATAMENTO DO EFLUENTE DE LATICÍNIOS PELO CONSÓRCIO**

*Tetrademus obliquus* E *Cladosporium halotolerans*

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

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva  
Coorientador: Prof. Dr. Rodolfo Junqueira Brandão

MACEIÓ – AL  
2025

**Catalogação na Fonte  
Universidade Federal de Alagoas  
Biblioteca Central  
Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S237i	Santos, Gabrielly Karla Silva. Influência da carga orgânica, intensidade luminosa e aeração no tratamento do efluente de laticínios pelo consórcio <i>Tetrademus obliquus</i> e <i>Cladosporium halorolerans</i> / Gabrielly Karla Silva Santos. – 2025. 92 f. : il. color.
	Orientador: Carlos Eduardo de Farias Silva. Co-orientador: Rodolfo Junqueira Brandão. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2025.
	Bibliografia: f. 78-92.
	1. Soro do leite. 2. Tratamento biológico. 3. Planejamento composto central. 4. Modelos matemáticos - Validação. 5. Normas ambientais. I. Título.
	CDU: 663.143

**Gabrielly Karla Silva Santos**

**INFLUÊNCIA DA CARGA ORGÂNICA, INTENSIDADE LUMINOSA  
E AERAÇÃO NO TRATAMENTO DO EFLUENTE DE LATICÍNIOS  
PELO CONSÓRCIO ENTRE *Tetradesmus obliquus* E  
*Cladosporium halotolerans***

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

Aprovada em: Maceió, 21 de fevereiro de 2025.

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 CARLOS EDUARDO DE FARIAS SILVA  
Data: 24/02/2025 21:18:31-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

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

Documento assinado digitalmente  
 RODOLFO JUNQUEIRA BRANDÃO  
Data: 25/02/2025 09:30:35-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Rodolfo Junqueira Brandão (Coorientador – PPGEQ/UFAL)

Documento assinado digitalmente  
 RENATA MARIA ROSAS GARCIA ALMEIDA  
Data: 25/02/2025 09:07:38-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

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

Documento assinado digitalmente  
 TACIANA CARNEIRO CHAVES  
Data: 24/02/2025 23:01:01-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Taciana Carneiro Chaves (IFAL)

## AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a Deus, que sempre esteve comigo em cada etapa dessa jornada, me dando forças e guiando meus passos.

À minha mãe, meu porto seguro, minha maior inspiração. Seu amor, paciência e apoio incondicional foram essenciais para que eu chegassem até aqui. Obrigada por me apoiar nos momentos de ansiedade, por suportar meu estresse, por sempre ter palavras acolhedoras e um abraço reconfortante. Tudo o que sou hoje é reflexo dos seus ensinamentos e da sua dedicação. Amo você mais que tudo.

Ao meu namorado, obrigada por todo apoio e incentivo ao longo dessa caminhada. Sua compreensão nos dias em que precisei me dedicar à escrita da dissertação fez toda a diferença. Além disso, sua disposição em me ajudar na filtragem das amostras e em ficar comigo até tarde da noite na UFAL foram essencial para que esse trabalho se concretizasse. Não teria conseguido sem o seu apoio e carinho. Te amo demais!

Não teria chegado até aqui sem a ajuda da minha querida amiga, mestra e doutoranda Josimayra. Desde a minha iniciação científica, você tem sido minha guia nessa jornada acadêmica, e cada uma das minhas conquistas carrega sua participação. Obrigada por toda a paciência nos momentos de desespero, pelas mensagens respondidas tarde da noite e pelo apoio incondicional. Sou imensamente grata pela sua ajuda e pelos conselhos valiosos. Te amo, amiga!

Ao aluno de iniciação científica, Yarli, minha imensa gratidão! Sua disposição para me ajudar foi de grande valia. Sempre interessado em aprender, você demonstrou um comprometimento admirável.

Aos alunos de iniciação científica Bruno e Luis, gratidão minha pela ajuda na filtração e análise de amostras. A contribuição de vocês foi extremamente valiosa para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu grande amigo Pedro Stopa, que saiu de casa em plena sexta-feira só para me ajudar a filtrar amostras: obrigada, de coração! Sua amizade significa muito para mim. Te amo, amigo! Agradeço também as minhas amigas Maju e Rebeka pelo apoio incondicional. Amo vocês!

Ao casal de amigos Micaela e Rodolfo, minha imensa gratidão! Mica, rainha do nitrogênio, obrigada por toda a ajuda nessas análises. Rodolfo, sua aula online de Python foi um verdadeiro salvamento! Obrigado pela paciência. Amo vocês!

Minha gratidão ao doutorando Felipe de Alcântara pelo apoio e pela paciência ao me auxiliar na otimização do meu experimento. Sua ajuda foi essencial para o aprimoramento do meu trabalho.

Minha gratidão ao meu orientador, Dr. Carlos Eduardo, que me orienta desde a iniciação científica. Agradeço por todos os ensinamentos compartilhados e por me auxiliar neste e em outros projetos da minha trajetória acadêmica.

Ao meu coorientador, Dr. Rodolfo Brandão, obrigada pela paciência, dedicação e ensinamentos valiosos. A sua disposição em responder aos meus e-mails de ‘SOS mestrado’, mesmo durante as suas férias, fez toda a diferença.

Por fim, agradeço a todos os colegas do laboratório, que sempre se esforçaram para me animar e incentivar quando o desânimo batia. A presença e o apoio de vocês fizeram toda a diferença ao longo dessa caminhada.

A todos que, de alguma forma, desenvolveram para que essa dissertação se tornasse realidade, muito obrigada.

## RESUMO

O soro do leite é um resíduo da produção de queijo, contendo alta carga orgânica e produzido em grande quantidade, possuindo assim um alto potencial poluidor. Uma das maneiras de diminuir a carga orgânica e outros componentes poluentes do soro do leite é por meio do tratamento biológico, em que se utilizam microrganismos capazes de degradar as substâncias tóxicas presentes no meio. Entretanto, para um processo eficiente é imprescindível o conhecimento de como as condições do processo podem afetar a capacidade de remediação destes seres microscópicos. Desse modo, o objetivo deste estudo é avaliar a influência da carga orgânica, intensidade luminosa, aeração e pH aplicada no tratamento do soro do leite utilizando o consórcio da microalga *Tetraselmis obliquus* e do fungo filamentoso *Cladosporium haloterans* em reator tubular de coluna de bolhas. O design experimental utilizou o planejamento composto central utilizando 3 fatores em 3 níveis, com a carga orgânica, representada pela Demanda Química de Oxigênio (DQO) de 1200, 2100 e 3000 mg.L<sup>-1</sup>, uma intensidade luminosa de 50, 100 e 150 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e taxa de aeração de 1,5, 2 e 2,5 vvm. Modelos matemáticos foram obtidos para o tratamento biológico de soro do leite durante 7 dias de tratamento com R<sup>2</sup> de 0,83 para DQO residual, de 0,88 para Fósforo Total (FT) residual e de 0,90 para Nitrogênio Total (NT) residual, além disso, o ponto ótimo encontrado foi de 1200 mg.L<sup>-1</sup> de DQO, intensidade luminosa de 130 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e aeração de 1,8 vvm. Os modelos matemáticos calculados para o tratamento de 4 dias tiveram R<sup>2</sup> ajustado não satisfatórios para DQO e FT residual, em razão da falta de ajuste dos modelos matemáticos e pelo alto ruído dos dados, ocasionados pela instabilidade do sistema durante a variação de pH ocasionada pelo crescimento fúngico, enquanto o NT residual apresentou um R<sup>2</sup> satisfatório. Por fim, a validação dos modelos foi realizada, porém um problema na fonte de aeração causou impactos nos últimos dias de tratamento, apesar disso os resultados residuais obtidos foram de acordo com algumas normas e legislações de descarte de efluentes, principalmente para o tratamento de duração de 7 dias. Uma nova validação é necessária para confirmar a confiabilidade dos modelos matemáticos encontrados no estudo.

**Palavras-chave:** Efluente de laticínios; Tratamento biológico; Planejamento Composto Central; Validação; Normas ambientais.

## ABSTRACT

Whey is a residue from cheese production, containing a high organic load and produced in large quantities, thus having a high polluting potential. One way to reduce the organic load and other polluting components of whey is through biological treatment, in which microorganisms capable of degrading toxic substances present in the environment are used. However, for an efficient process, it is essential to know how the process conditions can affect the remediation capacity of these microscopic beings. Thus, the objective of this study is to evaluate the influence of the organic load, light intensity, aeration and pH applied in the treatment of whey using the consortium of the microalgae *Tetradesmus obliquus* and the filamentous fungus *Cladosporium haloterans* in a tubular bubble column reactor. The experimental design used central composite planning using 3 factors at 3 levels, with Chemical Oxygen Demand (COD) of 1200, 2100 and 3000 mg.L<sup>-1</sup>, light intensity of 50, 100 and 150 µmol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> and aeration rate of 1.5, 2 and 2.5 vvm. Mathematical models were obtained for the biological treatment of whey during 7 days of treatment with R<sup>2</sup> of 0.83 for residual COD, 0.88 for residual Total Phosphorus (TF) and 0.90 for residual Total Nitrogen (TN). In addition, the optimum point found was 1200 mg.L<sup>-1</sup> of COD, light intensity of 130 µmol.m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> and aeration of 1.8 vvm. The mathematical models calculated for the 4-day treatment had unsatisfactory adjusted R<sup>2</sup> for COD and residual FT, due to the lack of adjustment of the mathematical models and the high noise of the data, caused by the instability of the system during the pH variation caused by fungal growth, while the residual NT presented a satisfactory R<sup>2</sup>. Finally, the validation of the models was performed, but a problem in the aeration source caused impacts in the last days of treatment, despite this, the residual results obtained were in accordance with some standards and legislation for effluent disposal, mainly for the 7-day treatment. A new validation is necessary to confirm the reliability of the mathematical models found in the study.

**Keywords:** Dairy effluent; Biological treatment; Central Composite Planning; Validation; Environmental standards.

## INDÍCE DE FIGURAS

- Figura 1** - Fluxograma da produção de leite e seus derivados
- Figura 2** - Estimativa do volume de efluentes produzidos pela indústria laticínios na UE no ano de 2019. Valores expressados em 1000 m<sup>3</sup>.
- Figura 3**- Métodos de tratamento de efluentes lácteos.
- Figura 4**- Microalga *Tetradesmus obliquus* vista do microscópio.
- Figura 5** - Representação macro e microscópica do *Cladosporium halotolerans*. Aumentado x400 e x1000/2500.
- Figura 6** - Mecanismos de co-peletização entre microalgas e fungos filamentosos.
- Figura 7** - Relação simbiótica entre os fungos filamentosos e as microalgas no co-cultivo.
- Figura 8**- Representação gráfica do Planejamento de Ponto Central de 3 fatores em 2 níveis ...
- Figura 9**- Fluxograma das etapas realizadas para o desenvolvimento da pesquisa
- Figura 10** - Sistema de tratamento de soro do leite em um reator coluna de bolhas com intensidade luminosa constante.
- Figura 11** - Valores do pH para os 16 reatores em diferentes condições ambientais para o tratamento do soro do leite
- Figura 12** - Imagens no microscópio da aderencia de células de microalgas pelas hifas fúngicas.
- Figura 13** – a) Biomassa decantada sem a formação de pellets no reator coluna de bolhas com aeração de 1,12 vvm b) Biomassa pelletizada e não decantada no reator coluna de bolhas com aeração de 1,5 vvm.
- Figura 14** - Imagens de pellets fúngicos. a) reator de aeração 1,5 vvm b) reator de aeração 2 vvm c) reator de aeração 2,5 vvm d) reator de aeração 1,12 vvm e e) reator de aeração 3 vvm.
- Figura 15** - Gráfico para o modelo 1 de a) DQO, b) T e c) NT dos valores observados vs previstos.
- Figura 16** - Superfícies de resposta obtidas para DQO residual do Modelo 1.
- Figura 19** - Gráfico de normalidade para os dados de FT residual com 4 dias de tratamento.
- Figura 20** - Valores previstos vs Valores Observados para a) DQO residual do modelo 2 b) NT residual para o modelo 2
- Figura 22** - Superfícies de resposta da NT residual para o Modelo 2

## INDÍCE DE TABELAS

**Tabela 1** - Características físico-químicas dos efluentes da indústria do leite.

**Tabela 2** - Composição dos tipos de soro do leite.

**Tabela 3** - Composição físico-química do soro de leite de diferentes tipos de queijo e origens distintas em g/100g.

**Tabela 4** - Taxas de aeração para a peletização

**Tabela 5** - Tipos de efluentes industriais tratados por microalgas.

**Tabela 6** - Tipos de poluentes tratados por fungos filamentosos.

**Tabela 7** - Intensidades luminosas na biorremediação por co-cultivo de microalgas e fungosfilamentosos.

**Tabela 8** - Variáveis independentes e níveis investigados no experimento.

**Tabela 9** - Tabela com os valores de carga orgânica e proporção de DQO e NT para cada nível do planejamento composto central.

**Tabela 10** - Resultados da DQO residual, FT residual e NT residual do tratamento do soro do leite durante 7 dias.

**Tabela 11** - Resultados da DQO residual, FT residual e NT residual do tratamento do soro do leite durante 7 dias.

**Tabela 12** - ANOVA para os modelos matemáticos de DQO, FT e NT residuais com 7 dias de tratamento.

**Tabela 13** – ANOVA para DQO, FT e NT residual para o tratamento do soro do leite de 4 dias

**Tabela 14** - Valores residuais para o tratamento 1 e 2 com os parâmetros de descarte de algumas legislações

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 Objetivo Geral .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>13</b>
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1 Indústria do leite.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1.1 Produção de laticínios no Brasil e no mundo .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1.2 Efluentes produzidos pela indústria de laticínios .....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.3 Métodos de tratamento do soro do leite .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Características biológicas das microalgas e dos fungos filamentosos .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.1 Fatores que influenciam o crescimento microbiológico .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1.2 Fungos filamentosos e microalgas no tratamento de efluentes .....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.2 Co-cultivo de microalgas e fungos para tratamento de efluentes .....</b>	<b>33</b>
<b>3.3 Design experimental (DE) .....</b>	<b>37</b>
<b>3.3.1 Conceitos gerais de planejamento experimental.....</b>	<b>38</b>
<b>3.3.2 Planejamento Fatorial.....</b>	<b>39</b>
<b>3.3.3 Planejamento Composto Central (PCC) .....</b>	<b>40</b>
<b>3.3.4 Análise de variância (ANOVA) .....</b>	<b>41</b>
<b>4. MÉTODOLOGIA .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1 Espécies de fungo filamentoso e microalga .....</b>	<b>43</b>
<b>4.2 Efluente.....</b>	<b>44</b>
<b>4.3 Planejamento Experimantal .....</b>	<b>44</b>
<b>4.4 Sistema de Tratamento .....</b>	<b>45</b>
<b>4.5 Caracterização físico-química .....</b>	<b>46</b>
<b>4.5.1 Método de digestão com dicromato – Determinação da demanda química de oxigênio .....</b>	<b>46</b>

<b>4.5.2 Método de Kjeldahl adaptado – Determinação de nitrogênio total.....</b>	<b>47</b>
<b>4.5.3 Método do ácido ascórbico – Análise de fósforo total .....</b>	<b>48</b>
<b>4.5.5 Determinação e acompanhamento do pH .....</b>	<b>48</b>
<b>4.6 Validação do modelo matemático .....</b>	<b>48</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>5.1 Cargas orgânicas do efluente de soro do leite .....</b>	<b>49</b>
<b>5.2 Influência dos fatores no tratamento biológico do soro do leite.....</b>	<b>50</b>
<b>5.3 Influência do pH no tratamento biológico do soro do leite.....</b>	<b>56</b>
<b>5.4 Influência da taxa de aeração na formação e pellets.....</b>	<b>57</b>
<b>5.5 Análise estatística e otimização pelo método de superfícies de resposta .....</b>	<b>59</b>
<b>5.6 Validação do modelo matemático .....</b>	<b>71</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>75</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>76</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

A fabricação de produtos lácteos é um ramo da indústria alimentícia focada na fermentação do leite *in natura* para obter leite em pó, queijo, manteiga, iogurte, entre outros. Esses produtos apresentam aspectos importantes para a dieta humana por possuírem carboidratos, proteínas, minerais e outros componentes com alto valor nutricional (García-Burgos *et al.*, 2020; Tabelini *et al.*, 2023). Ainda, segundo dados da Compainha Nacional de Abastecimento (CONAB), o Brasil faz parte dos principais produtores de leite mundiais, tendo uma produção anual estimada em 35 bilhões de litros. A indústria leiteira é uma importante fonte de renda e de geração de empregos em todo o mundo, principalmente no Brasil, onde esta atividade está presente em quase todos os estados do país (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 2024).

No entanto, a indústria de laticínios ao fermentar o leite gera resíduos líquidos com grande potencial poluidor. Algumas pesquisas mostraram que o efluente produzido em maior quantidade é o soro do leite, proveniente da fabricação de queijo. Para cada 1 kg de queijo produzido são produzidos 9 litros de soro do leite, este possui em sua composição diversos compostos orgânicos e inorgânicos que caso descartados em corpos de água sem o tratamento adequado pode causar danos ao meio ambiente (Bintsis; Papademas, 2023; De Almeida; Mockaitis; Weissbrodt, 2021).

Uma maneira eficiente de tratar o soro do leite é através do tratamento biológico, uma metodologia mais econômica e ecológica quando comparada com os métodos químicos e físicos. Utilizando o co-cultivo de microrganismos é possível obter resultados mais satisfatórios na remoção de poluentes, graças a relação simbiótica que estes seres possuem entre si, um exemplo é a troca gasosa realizada pelos fungos filamentosos heterotróficos (absorvem O<sub>2</sub>) e das microalgas fotossintetizantes (liberam O<sub>2</sub>), além destes há outros mecanismos que tornam a bioremediação em consórcio o processo mais eficaz, como a diminuição de compostos maiores por fungos filamentosos tornando possível a utilização destes pelas microalgas, e gerando um lodo com potencialidade para diversos bioprocessos como biofertilizante, biocombustíveis entre outros (Satpati *et al.*, 2023; Chu *et al.*, 2021).

Visando obter o sucesso do tratamento biológico de efluentes é necessário estudar algumas variáveis do processo, como o pH, intensidade luminosa, taxa de aeração e carga orgânica do efluente, que influenciam o metabolismo dos microrganismos, e consequentemente na remoção de poluentes. Isto pode ser realizado por meio de um Planejamento Composto Central (PCC), que consiste em um planejamento experimental utilizado para avaliar como as

variáveis de entrada afetam a resposta de um processo, com um menor número de experimentos (Schiefer; Schiefer 2021; Zheng *et al.*, 2024).

Além disso, o planejamento composto central possibilita a obtenção de modelos matemáticos e gráficos/superfícies que permitem o melhor entendimento de como as variáveis de entrada afetam as respostas do processo. Assim, é possível encontrar o ponto ótimo de operação e otimizar o processo, auxiliando então no desenvolvimento da escala piloto para a industrial, sem exceder os recursos disponíveis para a experimentação (Alizadeh; Alle; Mistree, 2020).

O presente estudo se propõe a avaliar alguns fatores ambientais e nutricionais aplicados no processo de tratamento de efluente de laticínio, por meio de um planejamento composto central. O processo biológico será conduzido em um reator empregando um consórcio de microrganismos. Essa abordagem busca aprimorar a compreensão do processo, otimizar as condições de cultivo e aumentar a eficiência do tratamento.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a influência da carga orgânica do efluente, intensidade luminosa e taxa de aeração aplicada no tratamento do soro do leite utilizando o consórcio da microalga *Tetradesmus obliquus* e do fungo filamentoso *Cladosporium halotolerans* em reator tubular de coluna de bolhas, por meio de planejamento composto central.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar o efluente soro do leite utilizado no estudo;
- Estudar a simbiose microalga-fungo aplicada em diferentes condições de co-cultivo previamente estabelecidos pelo planejamento composto central;
- Quantificar os contaminantes residuais do soro do leite, sendo eles Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrogênio Total (NT) e Fósforo Total (FT);
- Analisar como a concentração de efluente, intensidade luminosa, taxa de aeração e pH impactam na eficiência do tratamento biológico do soro do leite.

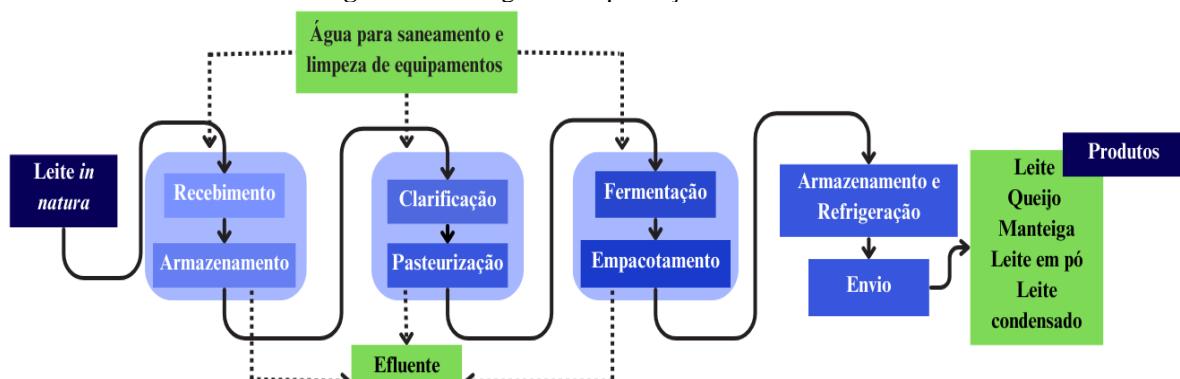
### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Indústria do leite

O setor alimentício responsável pela produção de produtos lácteos é a indústria de laticínios, focada na fermentação da matéria-prima para obter iogurte, manteiga, queijo, leite em pó, entre outros. Estes produtos possuem alto valor nutricional dada sua composição de carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas e minerais que são de extrema importância para uma alimentação saudável. Também auxiliam na microbiota intestinal e possuem efeitos antialérgicos e antioxidantes (García-Burgos *et al.*, 2020; Pires *et al.*, 2021; Stasinakis; Charalambous; Vryrides, 2022).

As etapas de produção de laticínios englobam o recebimento e armazenamento do leite *in natura*, caracterização físico-química, seguida de filtração, clarificação, padronização, tratamento térmico, engarrafamento, armazenamento e refrigeração. Este processo gera resíduos com alta concentração de compostos orgânicos e inorgânicos que causam impactos ambientais negativos, caso descartados sem o tratamento adequado (Tabelini *et al.*, 2023; García-Burgos *et al.*, 2020; Pires *et al.*, 2021; Ahmad *et al.*, 2019). A Figura 1 representa o processamento de leite e seus derivados.

**Figura 1 - Fluxograma da produção de leite e seus derivados**



Fonte: Adaptado de Bella e Rao (2023).

A indústria do leite traz benefícios para a economia dos países produtores por ter um alto rendimento e gerar empregos. Sua demanda têm se mantido em constante ascenção nas últimas décadas e por isso é esperado que a produção mundial de leite se mantenha em crescimento pelos próximos anos. Atualmente, alguns países se destacam na produção de laticínios, seja para consumo interno ou exportação, como também na geração de resíduos ligados a fabricação destes produtos (Adesogan; Dahl, 2020).

### **3.1.1 Produção de laticínios no Brasil e no mundo**

No cenário global, é esperado que a produção de leite atinja 997 milhões de toneladas até o ano de 2029. Para o ano de 2023, houve um aumento de 0,05% em relação ao ano anterior, com maior crescimento na Ásia, China e Índia. A Índia é o maior produtor mundial de leite com aumento na produção de 2,1% no ano de 2022. A União Europeia (UE) ocupa a segunda posição no ranking de maiores produtores de leite com uma produção de 155 milhões de toneladas ao ano. Em 2020, haviam cerca de 20 milhões de vacas na UE, produzindo em média 7300 kg de leite por cabeça (OCDE/FAO, 2023).

A UE é um dos maiores exportadores de leite em pó e queijo. Segundo a Eurostat, a quantidade de queijo exportada pela UE foi de 1,383 mmt (milhões de toneladas métricas) no ano de 2023. Todavia, a produção de laticínios na UE está transitando para uma fabricação mais ambientalmente sustentável, dada a alta quantidade de efluentes liberados pelos métodos tradicionais (OCDE/FAO, 2023).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, produzindo cerca de 35 bilhões de litros ao ano. Especialistas acreditam que a produção de leite no Brasil tende a alavancar ainda mais após o Decreto 11.732/2023 que limita a importação do produto, com vigor em janeiro de 2024 (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 2023). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a quantidade de leite cru industrializado no Brasil foi de 5.389.682 litros no segundo trimestre de 2022 e de 5.765.182 litros no mesmo período de 2023, isso demonstra o crescimento produtivo anual deste setor e a importância econômica da indústria de laticínios no país.

Em relação a geografia da produção de leite e derivados, as regiões sul e sudeste do país são responsáveis por 68% dos laticínios brasileiros, sendo o estado de Minas Gerais, conhecido pela fabricação de diversos tipos de queijo, o maior produtor de leite brasileiro, apresentando uma produção de cerca de 514 mil no primeiro trimestre de 2024. Mais ainda, dados mostram que a produtividade leiteira da região nordeste o torna um candidato para a expansão do agronegócio leiteiro, com destaque para os estados de Pernambuco, Sergipe e Alagoas (IBGE, 2024; EMBRAPA, 2023; EMBRAPA, 2020).

Vale ressaltar que a exportação brasileira de leite apresenta crescimento constante desde o ano de 2018, ao comercializar 6,8 mil toneladas para o mercado internacional, enquanto em 2022, este valor foi cerca de 22 mil toneladas. Além disso, esteve no seu auge nos anos de 2014/2015, tendo como enfoque a exportação de queijos (3,4 mil t), leite em pó (11,9 mil t) e leite condensado (16,7 mil t). Adicionalmente, o Brasil é um importador de laticínios, com os

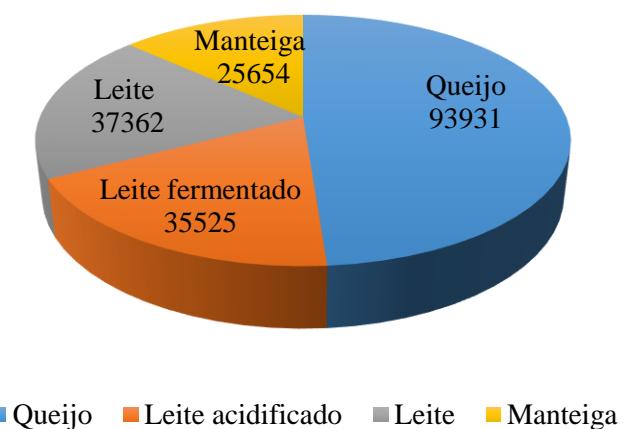
principais fornecedores, sendo o Uruguai e a Argentina. Este comércio custou em média US\$ 576,9 milhões anualmente pelos últimos 10 anos, principalmente de leite em pó que representou 58% dos gastos (EMBRAPA, 2023; USDA, 2023).

### 3.1.2 Efluentes produzidos pela indústria de laticínios

O aumento da demanda global de leite e seus derivados resulta em uma maior geração de resíduos provenientes da fermentação do leite, produção dos subprodutos e da limpeza de equipamentos e utensílios usados para a fabricação e embalagem dos produtos. Caso descartados sem o tratamento adequado, podem causar danos à estrutura do solo e à morte de animais aquáticos (Ahmad *et al.*, 2019; Rao, 2023).

O estudo de Stasinakis, Charalambous e Vryrides (2022) analisou a quantidade de efluentes gerados durante a produção dos principais produtos lácteos na União Europeia, importante produtor mundial. Notou-se que a maioria das águas residuais provém da produção de queijos (49%), seguido pela produção de leite (19%), leite fermentado (18%) e manteiga (13%), como mostra a Figura 2.

**Figura 2** - Estimativa do volume de efluentes produzidos pela indústria laticínios na UE no ano de 2019. Valores expressados em 1000 m<sup>3</sup>.



Fonte: Adaptado de Stasinakis; Charalambous; Vryrides (2022).

A presença de efluentes da indústria de laticínios nos corpos hídricos aumentam a concentração de carga orgânica, nitrogênio e de fósforo, tornando o ambiente mais propício para o crescimento de algas e bactérias. Estes microrganismos consomem o oxigênio presente na água, ocasionando a morte gradual dos animais aquáticos. Ademais, o aumento de algas nos corpos hídricos dificulta a penetração da luz solar, reduzindo a fotossíntese realizada por outras

plantas aquáticas e diminuindo ainda mais a quantidade de oxigênio dissolvido. A concentração de sólidos suspensos também limita a penetração da luz solar (Ahmad *et al.* 2019).

Os corpos hídricos que recebem efluentes lácteos não tratados apresentam odor desagradável e se tornam ambientes adequados para a proliferação de moscas e mosquitos transmissores de doenças perigosas como malária, dengue, chikungunya e febre amarela. A cor e a turbidez das águas também são alteradas por estes resíduos (Ahmad *et al.*, 2019; Raghunath *et al.*, 2016).

Especificamente, o nitrogênio presente nesse tipo de efluente pode ser convertido por bactérias em íons nitrato que são tóxicos para seres humanos e animais. Estes íons ao entrar na corrente sanguínea causam a metemoglobinemia. Neste caso, a hemoglobina é convertida em metahemoglobina que é incapaz de transportar oxigênio. Geralmente, afeta crianças com menos de seis meses de idade, pois elas ainda não possuem a enzima capaz de reverter a metahemoglobina em hemoglobina. Da mesma forma, pode atingir o gado. Além disso, os íons nitrato, ao entrar em contato com o solo, podem infiltrar-se até alcançarem as águas subterrâneas, contaminando-as. (Ahmad *et al.*, 2019; Raghunath *et al.*, 2016).

De maneira geral, as principais características físico-químicas dos efluentes incluem pH, carga orgânica, nitrogênio e fósforo. A carga orgânica é frequentemente avaliada por meio da Demanda Biológica de Oxigênio (DBO), que em resíduos não tratados geralmente varia entre 0,8 e 2,5 kg.t<sup>-1</sup>. Já a Demanda Química de Oxigênio (DQO) costuma ser aproximadamente 1,5 vezes maior que a DBO. Além disso, a quantidade de nitrogênio pode corresponder a cerca de 6% da DBO presente no efluente. (Sathy *et al.*, 2022; Ahmad *et al.*, 2019).

A DQO em águas residuais lácteas geralmente varia entre 80 e 95.000 mg.L<sup>-1</sup>, podendo ser ainda maior, enquanto a DBO oscila entre 40 e 48.000 mg.L<sup>-1</sup>. O fósforo está presente em concentrações de 10 a 100 mg.L<sup>-1</sup>, podendo ser encontrado tanto na forma orgânica quanto como ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) e polifosfato ( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ). O pH dessas águas residuais varia de 4,7 a 7,7, e a concentração de sólidos suspensos situa-se entre 100 e 1.000 mg.L<sup>-1</sup>. O nitrogênio pode estar presente na forma orgânica ou como os íons amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Por fim, a lactose é o principal carboidrato encontrado. (Ahmad *et al.*, 2019; Goli *et al.*, 2019).

Elementos como manganês (Mn), ferro (Fe), cobalto (Co), níquel (Ni), cálcio (Ca), potássio (K) e sódio (Na), também são encontrados nos efluentes lácteos. Sendo as concentrações mais altas de Na um indicador do uso de produtos de limpeza alcalinos durante

a lavagem dos equipamentos (Goli *et al.*, 2019). Na Tabela 1, as características do efluente de acordo com o produto final é ilustrada.

**Tabela 1** - Características físico-químicas dos efluentes da indústria do leite.

<b>Tipo de resíduo lácteo</b>	<b>pH</b>	<b>DBO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>DQO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Fósforo (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Nitrogênio (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
Efluente de laticínios crus	5,5-7,5	350-600	1500-3000	NI	NI
	6,5*	530*	790*	NI	NI
	6,74*	860*	6300*	21*	98 (TN)
	6,5-6,7	11000-11100	13050-13060	12,63-13,93	68-70 (TKN)
	4-11	1200-5000	2000-8000	20-104	39-141 (TKN)
Processamento de queijo	6,12*	NI	9321*	228*	810 (TKN)
	6,2-11,3	565-5722	785-7619	NI	NI
	4,45*	NI	65700*	53*	420 (TN)*
Águas residuais de sorvete	6,96*	NI	4935*	NI	NI
	4,2-9,79	NI	7312-10418	32-43	154-165 (TKN)
	5,2*	2450*	5200*	14*	60 (TKN)*

Fonte: Adaptado de Bella e Rao (2023).

\*Os dados relatados são valores médios.

NI: Não Informado;

NT: Nitrogênio Total;

NKT: nitrogênio de Kjeldahl total (combinação da amônia e do nitrogênio orgânico).

Com exceção do soro do leite, resíduo oriundo da produção de queijo, que apresenta uma cor verde-amarelado, os efluentes lácteos são brancos e turvos. Possuem odor desagradável e temperaturas mais altas que as águas residuais municipais (10-20°C) de 17 a 25°C. No inverno, podem atingir temperaturas entre 17 e 18°C. No verão chegam a medir entre 22 e 25°C. Devido às temperaturas elevadas, a biodegradação de substâncias tóxicas em efluentes lácteos ocorre mais rapidamente do que em efluentes municipais. (Ahmad *et al.*, 2019; Slavov, 2017).

### 3.1.3 Soro do leite

O soro do leite corresponde a parte líquida de coloração amarelo-esverdeada produzida na coagulação do leite para fabricação de queijo. Para produzir 1 kg de queijo é requerido 10 litros de leite, deste 9 litros são convertidos em soro do leite. Devido a isso, é considerado o efluente mais produzido em volume da indústria de laticínios (Bintsis; Papademas, 2023).

Esse resíduo possui uma composição rica em carga orgânica, o que pode causar impactos ambientais negativos, como a eutrofização, caso seja descartado sem as devidas medidas mitigatórias (De Almeida; Mockaitis; Weissbrodt, 2021). Este resíduo pode ser um

soro doce ( $\text{pH} > 6$ ) ou um soro ácido ( $\text{pH} < 5,8$ ) a depender do tipo de queijo produzido. O soro do leite ácido também pode ser obtido na produção de iogurtes coados, iogurtes gregos e na produção de caseína (Estikomah, Susilowati, Muhammad, 2021; Bintsis; Papademas, 2023). A composição dos tipos de soro do leite são mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2 - Composição dos tipos de soro do leite.**

<b>Tipo</b>	<b>Proteína (g.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Lactose (g.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Minerais (g.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>pH</b>
Soro do leite Doce	6-10	46-52	2,5-4,7	5,6-7
Soro do leite ácido	6-8	44-46	4,3-7,2	4,3<5,6

Fonte: Adaptado de Buchanan *et al.* (2023).

Comumente, a DQO do soro do leite varia entre 60.000 e 105.000 mg.L<sup>-1</sup>, enquanto a DBO é de aproximadamente 50.000 mg.L<sup>-1</sup>, podendo apresentar variações para mais ou para menos. Ainda, o soro do leite contém sólidos suspensos, minerais, proteínas e vitaminas, incluindo de 55% a 75% de vitamina B6 e de 40% a 70% de vitamina B12. Também estão presentes riboflavina, biotina, ácido nicotínico, ácido fólico e ácido ascórbico. Sua composição proteica é especialmente rica, sendo composta principalmente por  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbumina, imunoglobulina, albumina sérica, lactoferrina, lactoperoxidase, protease-peptona e glicomacropeptídeo. (León-López *et al.*, 2022; Akansha *et al.*, 2020; Krishna *et al.*, 2022). As características do soro do leite podem ser influenciadas não só pelo tipo de queijo fabricado, mas também por fatores relacionados a fonte do leite.

Nazos *et al.* (2023), caracterizou amostras de soro do leite provenientes da produção de queijo utilizando leite de cabra e de ovelha. A primeira amostra foi obtida da produção de queijo amarelo, similar ao queijo de graviera, e de queijo feta, um tipo de queijo branco. De igual modo, o soro do leite proveniente da produção de queijo mizithra e queijo antótiro também foi analisado. A amostra 1 apresentou uma DBO média entre 36,7 e 37,5 g.L<sup>-1</sup>, uma DQO de 84,4 e 94,1 g.L<sup>-1</sup> e pH de 6,6. O soro de leite de mizithra, apresentou DBO média de 29,6 e 33 g.L<sup>-1</sup>, DQO de 68 e 74,7 g.L<sup>-1</sup> e pH de 6,3. Para o soro de queijo antótiro, se obteve uma faixa de 26 a 31,6 g.L<sup>-1</sup> para DBO, 65,3 a 72,3 g.L<sup>-1</sup> para DQO e pH de 6,1. A Tabela 3, mostra exemplos de diferentes composições de soro do leite a depender do tipo de queijo produzido e de sua origem.

**Tabela 3** - Composição físico-química do soro de leite de diferentes tipos de queijo e origens distintas em g/100g.

Origem	pH	Gordura	Lactose	Proteína	Sólidos totais
Búfalo	NI	0,50	4,90	0,73	6,50
Vaca (de Feta)	6,3	0,25	4,72	0,82	6,32
Vaca (de Graviera)	6,3	0,60	4,90	0,90	6,90
Vaca (de Cottage)	4,6	0,04	4,90	0,75	5,50
Ovelha (de Graviera)	6,3	1,26	5,27	1,52	8,74
Ovelha (de Kefalotyri)	6,2	0,70	4,99	1,41	7,48

NI: Não informado. Fonte: Adaptado de Bintsis e Papademas, (2023).

Por possuir uma composição bastante nutritiva, o soro do leite é ocasionalmente utilizado na alimentação animal, porém, por conta da sua capacidade de acidificação e alto teor de lactose pode causar danos à saúde digestiva do animal. O soro do leite também pode ser reprocessado para geração de produtos secundários como a ricota e o requeijão, entretanto, isto acarreta na geração de resíduos com grande potencial poluidor (Buchanan *et al.*, 2023; Sar *et al.*, 2022).

### 3.1.3 Métodos de tratamento do soro do leite

O tratamento dos efluentes lácticos é dividido em três etapas. O tratamento primário visa a remoção dos sólidos suspensos, óleos e gorduras através da sedimentação por meio de processos físicos ou físico-químicos. Nesta etapa, o efluente passa por processos como gradeamento, decantação, flotação, separação de óleo e neutralização. Substâncias coagulantes são adicionadas ao efluente buscando uma melhor eficiência do processo (Soares; Quitério; Vendramel, 2018; Nunes *et al.*, 2021).

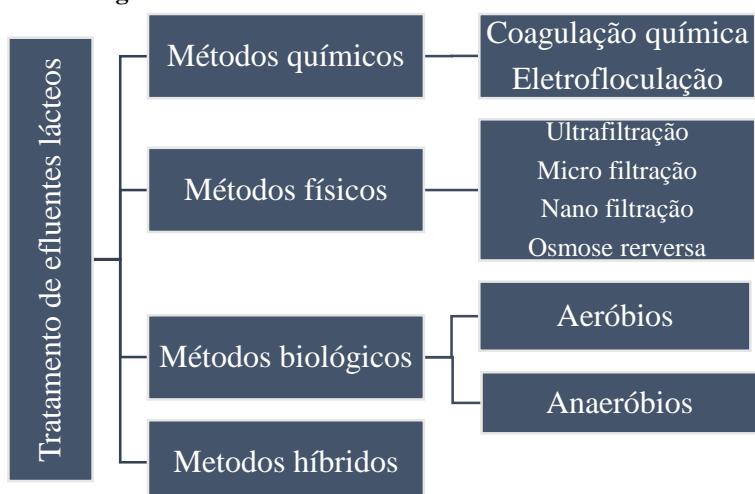
O tratamento secundário remove matéria orgânica dissolvida e os nutrientes, usualmente, por meio de tratamentos biológicos. Nesta fase, a corrente de saída do tratamento primário entra em contato com microrganismos, que degradam os contaminantes orgânicos e inorgânicos por meio de processos aeróbios (presença de oxigênio) ou anaeróbios (ausência de oxigênio), utilizando tecnologias como lodos ativados, filtros biológicos e lagoas aeradas. A combinação desses métodos também pode ser empregada (Soares; Quitério; Vendramel, 2018; Nunes *et al.*, 2021).

O último estágio consiste no polimento do efluente tratado. O objetivo dele é remover ainda mais as substâncias poluentes contidas no efluente como nitrato, fosfato, amônia e carbonatos. Normalmente, utilizam tratamentos físico-químicos de adsorção, quimissorção,

fissisorção e osmose reversa (Soares; Quitério; Vendramel, 2018; Nunes *et al.*, 2021). Contudo, esta etapa raramente é aplicada por exigir um alto investimento financeiro pelos métodos usualmente aplicados (Nunes *et al.*, 2021).

O tratamento biológico pode ser aplicado tanto na etapa secundária quanto na terciária. Embora dependa de fatores ambientais para atingir uma boa eficácia, é considerado mais vantajoso do que os tratamentos químicos, que exigem materiais caros e uma etapa adicional de alto custo e consumo de energia para remover compostos químicos que podem impactar negativamente o meio ambiente (Krishna *et al.*, 2022; Kaur, 2021; Patel; Joun; Sim, 2020). Na Figura 3, temos um resumo de todos os métodos de tratamento do efluente da indústria do leite.

**Figura 3-** Métodos de tratamento de efluentes lácteos.



Fonte: Adaptado de Krishna *et al.* (2022).

Para tratar águas residuais de lácteos, Custódio *et al.*, (2022) utilizou um consórcio de bactérias em uma combinação do tratamento anaeróbio e aeróbio. Já Schagerl *et al.*, (2022) ao mitigar águas residuais de laticínios e Marazzi *et al.*, (2022) ao tratar o soro do leite, optaram por utilizar microalgas por meio de um tratamento aeróbio em um reator de coluna de bolhas, sendo o primeiro utilizando apenas uma espécie de microalga, enquanto o outro optou por um consórcio de populações. Os fungos filamentosos também são aplicados para o tratamento de efluentes lácteos, como constatado em Ferreira *et al.*, (2021) por meio de uma digestão anaeróbia granular.

Não só isso, os microrganismos podem ser nativos do meio (indígenas) ou exógenos. As cepas indígenas e o seu consórcio são promissoras como agentes remediadores por serem naturalmente adaptadas aos estresses causados pela concentração de poluentes/compostos tóxicos (Khan *et al.*, 2019; Patel *et al.*, 2023). Portanto, Palanivel; Pracejus; Novo *et al* (2023)

e Zahan *et al* (2022) estudaram efluentes metais pesados e outros tipos de efluentes industriais, os quais foram tratados com fungos nativos, resultando em resultados positivos.

Vaishnavi, Thamaraiselvi e Vasanthy (2019) constataram que a remoção de poluentes de curtume com o consórcio de microrganismos indígenas foi maior que as monoculturas. Taluskar *et al.* (2020) também concluíram que o consórcio de espécies indígenas para a remoção de metais pesados de águas residuais é mais eficiente.

Para o tratamento do soro do leite, a aplicação de microbiota indígena para a remoção de poluentes foi relatada por Ralajaksmi *et al.* (2023) ao mitigar águas residuais da produção de queijo. Os agentes remediadores foram isolados do efluente de queijo, e em seguida, identificados, para então serem usados na redução dos valores de DQO, sólidos totais e descoloração do resíduo. Os resultados foram encorajadores.

A eficiência de remoção durante os métodos biológicos está relacionada com o metabolismo celular dos microrganismos, que são afetados por alguns aspectos ligados às condições ambientais do processo como temperatura, intensidade luminosa, pH, aeração e agitação (Dasgupta *et al.*, 2024; Chilakamarry *et al.*, 2022; Patel; Joun; Sim, 2020). Em virtude disso, é imprescindível o conhecimento das características biológicas das cepas selecionadas para sua correta aplicação e consequentemente uma alta remoção de poluentes.

### **3.2 Características biológicas das microalgas e dos fungos filamentosos**

As microalgas são microrganismos pertencentes ao reino *prototista*. Elas são seres fotossintetizantes, eucarióticos e unicelulares, e geralmente possuem estilo de vida aquático em águas marinhas, doces ou residuais. Através do seu metabolismo celular são capazes de transformar carbono inorgânico em biomassa e consumir nitrogênio e fósforo. Possuem a capacidade de se adaptar a diferentes condições de cultura fazendo com que sejam aplicadas em diferentes áreas como na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica. As microalgas também são usadas como fonte de biocombustíveis e no tratamento de efluentes (Moreno Osorio *et al.*, 2021; Thoré *et al.*, 2023; Jaiswal *et al.*, 2021).

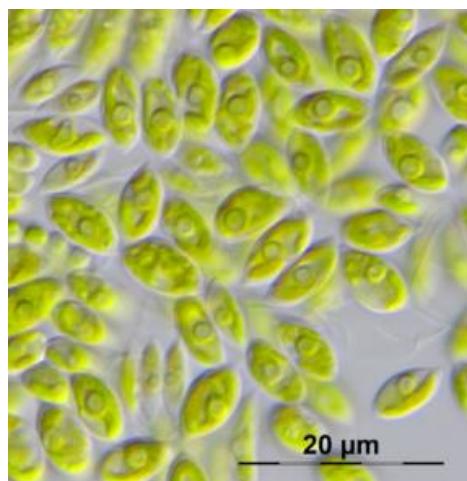
O cultivo de microalgas pode ser realizado em sistemas abertos ou em sistemas fechados. No primeiro, o cultivo ocorre de forma não estéril e em contato com o ambiente externo, o que apresenta um alto risco de contaminação por microrganismos competidores. Contudo, é o método mais adequado para o cultivo em massa de microalgas, exigindo uma baixa quantidade de energia. Por outro lado, o sistema fechado elimina o risco de contaminação,

pois é isolado do ambiente externo, mas demanda um investimento inicial mais elevado (Ahmad *et al.*, 2021).

A microalga *Tetraedesmus obliquus*, também conhecida como *Scenedesmus obliquus*, pertence ao filo *Chlorophyta*. É uma espécie bastante utilizada no tratamento de águas residuais e produção de biocombustíveis. Se reproduz assexuadamente pela ruptura da parede celular, liberando autósporos, embora já tenham sido registrados casos de reprodução sexuada.

Esta microalga possui uma alta taxa de crescimento e é resistente a condições adversas, sendo tolerantes a altas temperaturas. Pode se desenvolver em condições mixotróficas, heterotróficas e fotoautotróficas (Oliveira *et al.*, 2021; Kumar; Shukla, 2023; Oliveira *et al.*, 2021). A Figura 4 mostra uma visão microscópica da *T. obliquus*.

**Figura 4-** Microalga *Tetraedesmus obliquus* vista do microscópio



Fonte: Oliveira *et al.* (2021).

Estudos mencionam a microalga *T. obliquus* como um agente remediador. De Sá filho *et al.* (2023) diminuiram a concentração de nitrato em águas subterrâneas contaminadas por meio da *T. obliquus*, bem como Ruggini *et al.* (2019) que obtiveram resultados satisfatórios na remoção de fósforo em águas residuais. Selvan *et al.* (2023) afirma a utilização desta para a remoção de metais pesados.

De acordo com Kiran e Morhan (2020), a microalga *T. obliquus* é capaz de remover contaminantes presentes nos resíduos da indústria do leite (DQO, Nitrogênio e Fósforo). No estudo de De Andrade *et al.* (2023), foi observado uma remoção de 90% para DQO (valor inicial: 52.886 mg.L<sup>-1</sup>), de 83 a 94% para nitrogênio (valor inicial: 1.573 mg.L<sup>-1</sup>) e 100% para fósforo (valor inicial: 663,5 mg.L<sup>-1</sup>). As referências de Dos Santos *et al.* (2024) e Medeiros *et al.* (2024) demonstram a capacidade da microalga *T. obliquus* para o tratamento terciário do soro do leite, em consórcio com fungos filamentosos.

Se tratando dos fungos filamentosos, estes são seres eucarióticos, heterotróficos, com uma vasta diversidade de espécies, uni e pluricelulares, pertencentes ao reino *fungi*. Exibem 7 filos, sendo que os filos dos fungos terrestres são *Basidiomycota*, *Ascomycota* e *Zygomycota*. Os fungos filamentosos se distinguem dos demais pela presença de um micélio, formado por filamentos ramificados e hifas septadas ou cenocíticas. Dispõem de uma grande capacidade para produzir enzimas intracelulares e extracelulares, além de ácidos orgânicos, e podem ser aplicados na produção de biocombustíveis, proteínas alimentares e no tratamento de efluentes. (Troiano; Dumont, 2020; Ferreira; Varjani; Taherzadeh, 2020).

Acerca do cultivo, esse busca representar ecossistemas terrestres (Cultivo em estado sólido) e aquáticos (Cultivo submerso) onde os fungos são naturalmente encontrados. O cultivo submerso é o método mais empregado na biotecnologia, um exemplo de sua aplicação é para a remoção de contaminantes, por operar em grandes volumes com uma distribuição homogênea de nutrientes. O cultivo em estado sólido, também conhecido como fermentação em estado sólido, pode ser usado para produção de enzimas e alimentos fermentados, geralmente em pequena escala. (Ferreira; Varjani; Taherzadeh, 2020).

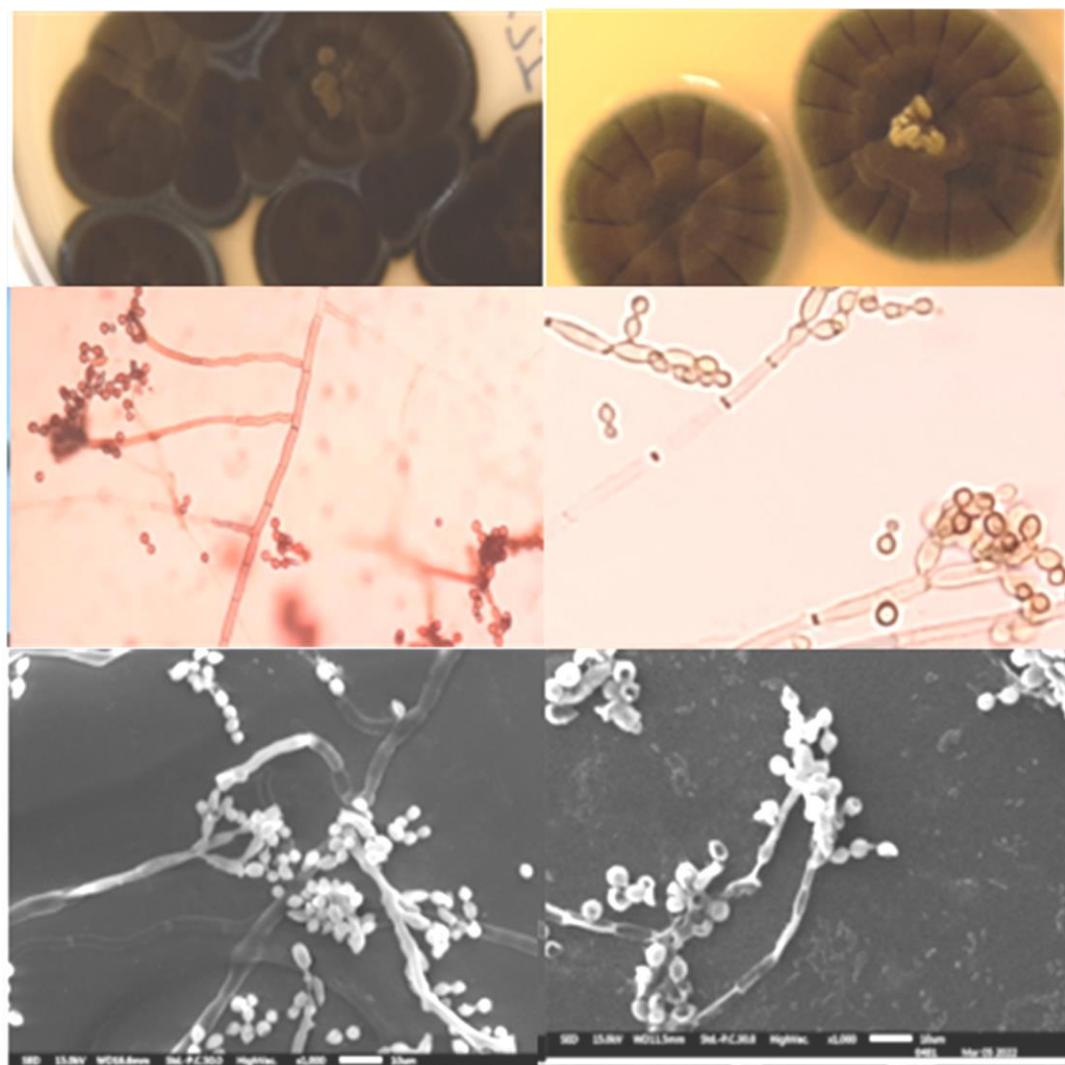
Os fungos filamentosos podem se desenvolver em formatos esféricos, conhecidos como pellets, por meio do cultivo submerso, no qual as hifas se entrelaçam, formando pelotas de diferentes diâmetros. Outrossim, esses fungos podem se associar a outros microrganismos, como as microalgas, em um processo denominado co-peletização. Quando empregados no tratamento de efluentes, promovem a bioflocação, o que torna o processo mais econômico e aumenta a eficiência na remoção de poluentes, ao proteger as células de microalgas do estresse ambiental (Chu *et al.*, 2021).

O *Cladosporium halotolerans* é um fungo filamentoso pertencente ao filo *Ascomycota*, apresenta capacidade de crescer em ambientes extremos, com valores altos de pH, temperatura e salinidade. Produzem enzimas extracelulares como lipases, proteases, amilases, celulases, e quitinases, que são bastante aplicadas na indústria. Tem uma velocidade de crescimento ótima de 4,1 mm dia<sup>-1</sup> e possui uma grande adaptação a diferentes disponibilidades de água. Isto provavelmente ocorre por ser um fungo filoplano. Se adapta melhor em diversas dinâmicas de umidade quando comparado a espécies de *Aspergillus niger* e *Penicillium Rubens* (Segers *et al.*, 2016; Kaur *et al.*, 2023).

Este fungo apresenta uma cor verde-oliva com superfície algodonosa. Seus conídiosforos in vitro podem ter entre 2-3,5 µm, e na maioria das vezes são ramificados. Os

conídios terminais são pequenos com 2-5 x 2-3  $\mu\text{m}$  (Bensch *et al.*, 2012). Imagens macro e microscópicas do fungo filamentoso *Cladosporium halotolerans* é mostrado na Figura 5.

**Figura 5** - Representação macro e microscópica do *Cladosporium halotolerans*. Aumentado x400 e x1000/2500.



Fonte: Kaur *et al.* (2023).

Estudos relatam o uso deste microrganismo no tratamento biológico. Como em Zhang *et al.*, (2022), onde o *Cladosporium halotolerans* foi incubado em meio mineral na presença de poliéster contendo poliuretano (PU) como única fonte de carbono. Este fungo formou biofilmes de camada fina na superfície das espumas do poliéster, degradando-a. Também notou-se que o fungo realiza a hidrólise das ligações de éster e uretano. Desse modo, o *C. halotolerans* comprovou ser eficiente na redução de resíduos poliméricos. Ademais, a espécie também apresentou capacidade para remover o metal pesado manganês (Mn) em águas residuais de minério, exibindo ter as características desejadas para o tratamento biológico de efluentes (Mota *et al.*, 2020).

Os experimentos realizados por Di Napoli *et al.* (2022), indicaram que o *Cladosporium halotolerans* degrada por meio da combinação de processos mecânicos exércitos por suas hifas fungicas e por processos enzimáticos como a liberação de enzimas com atividades de oxidorredutase, sendo assim são capazes de quebrar ligações carbono-carbono de polímeros plásticos.

Garnier *et al.* (2017), isolou e identificou o *C. halotolerans* no ar das fábricas de laticínios e no leite pasteurizado, demonstrando que esta espécie é indígena em produtos lácteos. Os produtos destas fábricas eram queijo cremoso, queijo fresco, queijo duro, iogurte e bebidas à base de iogurte. Kadasamy *et al.* (2020), também encontrou *C. halotolerans* no chão, parede e no ar da fábrica de laticínios na Coreia e nas tábuas de queijo. Por conseguinte, é possível que este fungo filamentoso seja um microrganismo naturalmente encontrados nos efluentes lácteos, em especial aos provenientes da fabricação de queijo. Desse modo, o *C. halotolerans* aparenta ser um candidato promissor para o tratamento biológico do soro do leite.

O gênero do fungo filamentoso *Cladosporium* foi anteriormente aplicado para o tratamento dos efluentes oriundos das fábricas de laticíneos, chegando a atingir uma remoção de poluentes de 72,5% (Concentração inicial de  $328\pm5 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (Marwah Bakri, 2022; Hassan; El-Said; Mohamed, 2020).

### 3.2.1 Fatores que influenciam o crescimento microbiológico

O crescimento de microalgas e fungos filamentosos é altamente condicionado por fatores nutricionais e ambientais. Alterações nessas condições podem levar a variações no consumo de nutrientes e, no contexto da biorremediação, na degradação de poluentes. Portanto, a análise desses fatores é fundamental para maximizar a eficácia da aplicação desses microrganismos na indústria. (Thoré *et al.*, 2023; Ferreira; Varjani; Taherzadeh, 2020; Ahmad *et al.*, 2019).

O desenvolvimento da microalga pode ser atingido por fatores como: intensidade luminosa, concentração de gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ) e de nutrientes, pH, aeração, salinidade, temperatura e grau de agitação. Entre esses, destaca-se a intensidade e o período de exposição à luz, uma vez que afetam diretamente a energia necessária para a fotossíntese. Somado a isso, as concentrações de carbono, nitrogênio e de fósforo desempenham um papel crucial no metabolismo fotossintético das microalgas (Costa; Cruz; Da Rosa, 2021; Ali *et al.*, 2021; Kholssi; Lougraimzi; Moreno-Garrido, 2023).

Os fungos filamentosos dependem da temperatura, pH, salinidade, concentração de nutrientes, principalmente carbono, grau de agitação e aeração para apresentarem um crescimento celular eficiente (Negi; Das, 2023; Wikandari; Hasniah; Taherzadeh, 2022). Estudos mostrados em Dasgupta *et al.* (2024), apontam que a luz e seu período de exposição tem influência na reprodução e crescimento dos fungos.

- pH

Os íons hidrogênios regulam a disponibilidade e a solubilidade dos nutrientes imprescindíveis para o crescimento celular, por isso é requerido o estudo do pH para um tratamento biológico eficiente (Costa; Cruz; Da Rosa, 2021; Dasgupta *et al.*, 2024). Cada microrganismo possui uma faixa de pH ideal, sendo geralmente ácidos (3,8 e 6) para os fungos filamentosos e alcalinos (entre 6 a 8) para as microalgas. Apesar disso, ambos apresentam capacidade de adaptação a outras faixas quando cultivados em consórcio (Chilakamarry *et al.*, 2022; Chowdury; Nahar; Deb, 2020).

No que se refere ao cultivo em consórcio da microalga e dos fungos filamentosos, os ambientes relativamente ácidos causam atração entre microalgas (carga negativa) e fungos (carga positiva), favorecendo a peletização. Em ambientes altamente alcalinos, ocorre a desprotonação da superfície das células das microalgas, resultando em uma repulsão eletrostática. Essa variação de carga é causada pelos grupos funcionais presentes na parede celular das algas, que possuem prótons ativos sensíveis à variação de pH, como hidroxila, amina e grupo carboxílico (Chu *et al.*, 2021).

- Nutrientes

Os principais macronutrientes para as microalgas e fungos filamentosos são nitrogênio, carbono e fósforo. Portanto, a proporção estequiométrica de carbono, nitrogênio e fósforo (C:N:P) é de suma importância para que não ocorra a escassez ou excesso destes nutrientes durante o crescimento celular. Alguns micronutrientes, como ferro, zinco, magnésio, potássio e cobre, também são consumidos pelos microrganismos (Jacob-Lopes; Zepka, 2019; Maltsev; Kulikovskiy; Maltseva, 2023).

Os fungos filamentosos apresentam dificuldades na atividade enzimática para processos com excesso de nitrogênio e fósforo, sendo adotada uma relação de 100:5:1 de DQO:N:P (Diaz *et al.*, 2021). Para as microalgas, existe uma deficiência de fósforo quando expostas uma relação de N:P > 22 e >32 para as planctônicas e bentônicas, respectivamente, ambas de água doce (Maltsev; Kulikovskiy; Maltseva, 2023).

- Intensidade Luminosa

A luz é importante para as microalgas, tanto como fonte de energia para a fotossíntese como para a ativação da síntese lipídica. Em regra, a faixa ideal de intensidade luminosa para as elas, está entre 26 a 400  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Em condições mixotróficas, a quantidade mínima de luz deve ser entre 10 e 15  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (Maltsev; Kulikovskiy; Maltseva, 2023; Lopez-Sanchez *et al.*, 2022).

Nos fungos filamentosos, a intensidade luminosa afeta a produção de metabólitos secundários necessários para a sua atividade celular, entretanto não há uma faixa de intensidade luminosa para os fungos filamentosos. Para ambos os microrganismos, é estudado uma razão de tempo para exposição a luz (relação claro/escuro). Esta relação varia de acordo com a espécie de microrganismo (Yu *et al.*, 2023).

- Aeração e agitação

A aeração e agitação interferem na temperatura do sistema, por aumentar a transferência de calor e massa, e são responsáveis por dissolver oxigênio no meio, garantindo uma máxima atividade fotossintética e/ou respiratória. Ainda, adicionam uma força de cisalhamento que pode contribuir ou atrapalhar a peletização (Chilakamarry *et al.*, 2022).

O processo de agitação mecânica é realizado por hélices e chicanas acionadas por um motor. Esse método forma *pellets* com estrutura lisa e fácil ruptura, o que dificulta a adesão de outros microrganismos. Por outro lado, a agitação pneumática, que envolve a injeção de bolhas de gás, é mais recomendada, pois gera uma tensão de cisalhamento mais baixa, resultando em menos danos aos *pellets* fúngicos (Li *et al.*, 2022).

As taxas de aeração promovem uma agitação no sistema, gerando forças de cisalhamento que superam as forças de adesão de Van der Waals, resultando na formação de *pellets* quebradiços, pequenos e lisos. Em contrapartida, velocidades de aeração mais amenas evitam a adesão entre as hifas, ou, no caso de co-peletização, a adesão entre as microalgas e as hifas fúngicas. (Chu *et al.*, 2021; De Andrade *et al.*, 2022). A taxa de aeração para a pelletização e seus efeitos são mostrados na Tabela 4.

**Tabela 4 - Taxas de aeração para a peletização**

Fungo Filamentoso	Aeração (vvm)	Resultados	Referencias
<i>Aspergillus niger</i>	De 0 a 0,5	Pellets muito pequenos ou não há sua formação	Waldherr <i>et al.</i> , (2024)
<i>Aspergillus oryzae</i>	1	Observou um aumento do crescimento celular de 20% em relação a taxa de 0,5 vvm	Maiorano <i>et al.</i> , (2020)
<i>Aspergillus niger</i>	1,2	Tamanho final do pellet apresentou 60% do seu diâmetro inicial	Buffo <i>et al.</i> , (2020)
<i>Neurospora intermedia</i>	1,42	Pellets consistentes de tamanhos satisfatórios foram obtidos após 72 hrs de cultivo	Nair <i>et al.</i> , (2016)
<i>Aspergillus niger</i>	2	Pelotas de tamanho satisfatório e sem fragmentação	Buffo <i>et al.</i> , (2020)
<i>Penicillium citrinum</i>	2	Formação de pellets compactos	Namboodiri <i>et al.</i> , (2022)
<i>Geotrichum candidum</i>	2,5	Alto crescimento celular e aglomeração das células	Maldonado <i>et al.</i> , (2014)
<i>Trichoderma virens</i>	2,5	Obteve um crescimento fúngico de 85,36 g.L <sup>-1</sup> apenas em 6 horas	El-Moslamy <i>et al.</i> , (2023)
<i>Aspergillus niger</i>	5	Ocorre uma fragmentação dos pellets miceliais, cerca de 18%	Buffo <i>et al.</i> , (2020)

**vvm-** Volume de ar inserido por Volume útil do reator.

Fonte: Autora (2024).

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

As microalgas e os fungos filamentosos são capazes de se proliferar em efluentes que sejam ricos em carbono, nitrogênio e fósforo, elementos cruciais para a sua atividade metabólica (Rosa *et al.*, 2024; Satya *et al.*, 2023).

- Microalgas no tratamento de efluentes

A remediação utilizando microalgas é um método econômico que oferece uma biomassa final com grande potencial para a produção de produtos, como biocombustíveis e rações nutricionais. Porém, a recuperação dessa biomassa ainda represente um desafio para a indústria. (Ferreira; Varjani; Taherzadeh, 2020; Kumar; Shukla, 2023). As microalgas são adaptadas para tolerar alta concentração de poluentes, principalmente as do gênero *Scenedesmus*, *Chlorella* e *Chamydomonas*, sendo então as mais utilizadas nos estudos de tratamento de efluentes (Kumar; Shukla, 2023).

Os mecanismos pelos quais as microalgas degradam os compostos tóxicos são a bioadsorção (biossorção), bioabsorção (bioacumulação) e biodegradação ou biotransformação.

O primeiro processo envolve a adsorção dos contaminantes à parede celular ou a substâncias orgânicas excretadas, por meio de ligações químicas, interações covalentes e/ou iônicas. Trata-se de um processo reversível e não seletivo. Já a bioacumulação é um processo mais lento, que envolve o transporte ativo do contaminante para o interior da célula, onde ele se liga a proteínas e outros compostos, ocorrendo por difusão passiva, difusão passiva facilitada e transporte celular ativo de elétrons (Sutherland; Ralph, 2019; Kumar; Shukla, 2023).

Ao se falar de biodegradação/biotransformação é observado a conversão dos compostos complexos em moléculas mais simples via metabolismo catalítico. É mais promissora em comparação aos anteriores por deteriorar os contaminantes em estruturas mais simples que podem servir como fontes de carbono e elétrons para a célula, enquanto os outros apenas acumulam os contaminantes na sua estrutura, removendo-os do meio (Sutherland; Ralph, 2019; Kumar; Shukla, 2023). Na Tabela 5, alguns tipos de efluentes que podem ser tratados por diferentes espécies de microalgas são ilustrados.

**Tabela 5 - Tipos de efluentes industriais tratados por microalgas.**

Efluente Industrial	Microalga	Resultados obtidos	Produção de biomassa
Efluente de fábrica de óleo de palma	<i>Scenedesmus sp.</i> e <i>Chlorella vulgaris</i>	Remoção de 86% de NT, 85% de P-PO4, 77% de COT e 48% de DQO.	48,6% e 57,36% para <i>Scenedesmus sp.</i> e <i>Chlorella sp.</i> respectivamente.
Águas residuais da indústria têxtil	<i>Chlorella vulgaris</i>	A descoloração 99,7%, 80% de remoção de TN e TP, de DQO em 99,7%.	Crescimento de $1,62 \pm 0,12 \text{ mgL}^{-1}\text{dia}^{-1}$ .
Água de lavagem industrial	<i>Monoraphidium contortum</i>	Remoção de N-NO3 e P-PO4 de 25,8% e 7,2% respectivamente, com diminuição da DQO em 31,2%.	O rendimento final de biomassa obtida foi de 1,67 g.
Águas residuais de gado	<i>Scenedesmus obliquus</i>	A eficiência de remoção de DQO, N-NH4+ e PO43- em modo lote são 65–70%, 98–99% e 69–77,65%, respectivamente.	Maior produtividade de biomassa de 213–258 $\text{mgL}^{-1}\text{dia}^{-1}$ .
Águas residuais urbanas	<i>Chlorella vulgaris</i>	A eficiência de Remoção de nutrientes 86% NT e 80% em PT.	Dado não fornecido.

Fonte: Adaptado de Satya *et al.* (2023).

Alguns autores estudaram a aplicação de sistemas de microalgas no tratamento do soro do leite como em De Andrade *et al.* (2023). Patel, Joun e Sim (2020) cultivaram a *Chlorella Protorhecoïdes* sob condições mixotróficas em soro do leite hidrolisado e diluído caracterizado com uma DQO de  $17.806,36 \text{ mg.L}^{-1}$ , NT de  $383 \text{ mg.L}^{-1}$  e PT de  $397 \text{ mg.L}^{-1}$  e faixa de pH de 5 a 6. O sistema foi exposto a iluminação constante de  $150 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  e agitação de 120 rpm, por um período de 9 dias. O soro do leite 40% obteve maior eficiência com remoções de 92,6%, 98,4% e 79,9% para DQO, NT e FT, respectivamente.

Pandey *et al.* (2020) inocularam *Chlorella pyrenoidosa* para tratamento terciário do soro do leite contendo  $4,98 \pm 0,15 \text{ mg.L}^{-1}$  de DQO em uma iluminação de  $70 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  com ciclo de clarescuro de 12/12h e agitação de 3 a 4 vezes ao dia, removendo  $89,12 \pm 0,29\%$ . Uma espécie do mesmo gênero, *Chlorella vulgaris*, foi usada para tratar águas residuais de laticínios contendo soro do leite em ciclo de claro/escuro de 12/12h, durante 6 dias em leite não coagulado (DQO:  $49,47 \pm 1,06 \text{ mg.L}^{-1}$ ; TN:  $2.016 \text{ mg.L}^{-1}$ ; PT:  $221,75 \pm 3,69 \text{ mg.L}^{-1}$ ; pH: 3,5-4,5) e coagulado (DQO:  $42,47 \pm 1,56 \text{ mg.L}^{-1}$ ; NT:  $848 \text{ mg.L}^{-1}$ ; PT:  $105,06 \pm 5,61 \text{ mg.L}^{-1}$ ; pH: 6,5-7,0) em diferentes tamanhos de inóculo (0,1, 0,2, 0,4 e 1,0 g L<sup>-1</sup>), reduzindo carbono entre 7 e 56%, nitrogênio 0 e 71% e para fósforo 11e 46% (De Almeida Pires; Cardoso; Batista, 2022).

Similarmente, a microalga *Nannochloris sp.* tratou o mesmo tipo de efluente (DQO:  $68.300 \pm 37,30 \text{ mg.L}^{-1}$ ; NT:  $280 \pm 11 \text{ mg.L}^{-1}$ ; PT:  $1228 \pm 46 \text{ mg.L}^{-1}$ ; pH:  $6,08 \pm 0,17$ ) em um período de 7 dias, em ciclos de iluminação de claro/escuro de 12/12h, e em iluminação contínua. Os resultados mostraram que uma melhor redução de poluentes na iluminação contínua com 93% para DQO 94%, para NT e 82% para PT. Para os ciclos claro/escuro a remoção de DQO foi de 94%, enquanto as de NT e PT, 90 e 65%, respectivamente (Paulendo *et al.*, 2023).

- Fungos filamentosos no tratamento de efluentes

Os fungos filamentosos apresentam grande potencial na área de remediação, oferecendo uma alternativa mais econômica e ambientalmente sustentável. Seus *pellets* são facilmente removidos pelo processo de peneiração, diminuindo o custo e a energia que seria aplicada a sistemas que utilizassem outros microrganismos (Negi; Das, 2023).

Os mecanismos dos processos de remediação utilizados pelos fungos podem ser não enzimáticos e enzimáticos. Os não enzimáticos agregam a bioadsorção (processo similar ao da microalga), a produção de biossurfactantes (moléculas que reduzem a tensão superficial das fases líquidas, facilitando a remoção dos contaminantes) e a bioprecipitação (secreção de substancias capazes de precipitar íons metálicos presentes no sistema). Nos processos

enzimáticos ocorrem a biotransformação e biodegradação, similares a microalgas, porém mediadas por enzimas intra e extracelulares. As principais enzimas são catalases, lacases, lipases, amilases, peroxidases, xilanases e proteases, que além da capacidade de degradar resíduos orgânicos, também possuem valor comercial (Ghosh *et al.*, 2023; Negi; Das, 2023).

As espécies de fungos filamentosos mais estudadas para a remoção de poluentes são do grupo dos *Basidiomicetos* e *Zigomicetos*, principalmente *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Verticillium* e *Phanerochaete* (Ghosh *et al.*, 2023). Os pellets de micélio podem tratar águas residuais que contenham cor, fósforo, nitrogênio, DQO e metais pesados (Cr VI, Cd II, Cu II, entre outros) (Li *et al.*, 2022). Na Tabela 6 são ilustrados diferentes tipos de poluentes que podem ser tratados por fungos filamentosos.

**Tabela 6 - Tipos de poluentes tratados por fungos filamentosos.**

Tipos de poluentes	Fungos filamentosos	Concentração inicial de poluente	Eficiência de remoção
Selenito		10-60 mg.L <sup>-1</sup>	94,3%
Cromo III	<i>Aspergillus niger</i>	120-1150 mg.L <sup>-1</sup>	88-96%
Telurito		10-20 mg.L <sup>-1</sup>	92-98%
Águas residuais hospitalares	<i>Trametes</i> <i>(Coriolus versicolor)</i>	Ciprofloxacina 7.000 ng.L <sup>-1</sup> e tamoxifeno 970 ng.L <sup>-1</sup>	84-91%
Fenol e Selenito	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	100 mg.L <sup>-1</sup> fenol e 15 mg.L <sup>-1</sup> selenito	67,3%
Águas residuais da indústria têxtil	<i>Aspergillus carbonarius</i> e <i>Penicillium glabrum</i>	DQO: $934 \pm 13.8$ mg.L <sup>-1</sup> e cor: $400 \pm 15.5$ Pt-Co	67,7% DQO e 78,8% descoloração

Fonte: Adaptado de Negi; Das (2023).

Os fungos filamentosos já foram aplicados no tratamento de resíduos lácteos. Sharma *et al.* (2021) que estudou a capacidade de remediação deste efluente (pH 5,6; DBO: 560 mg.L<sup>-1</sup>; DQO: 1890,8 mg.L<sup>-1</sup>) durante 7 dias sob condição de agitação e temperatura de 25 °C pelo fungo *Mucor sp* que apresentou uma taxa de remoção de 69% e 89% para DBO e DQO, respectivamente.

Dickel *et al.* (2023) observou que a capacidade do *Aspergillus sclerotiorum* para tratar águas residuais de laticínios com alto teor de gordura através da liberação de enzimas de lipase realizadas por estes microrganismos. A DQO foi reduzida de 3163,1 mg.L<sup>-1</sup> para 2950 mg.L<sup>-1</sup>.

Além disso o pH foi aumentado de 5,26 para 6,2. A quantidade de óleos e gorduras diminuiu de 2517,3 mg.L<sup>-1</sup>para 210,6 mg.L<sup>-1</sup>após 168 horas de tratamento.

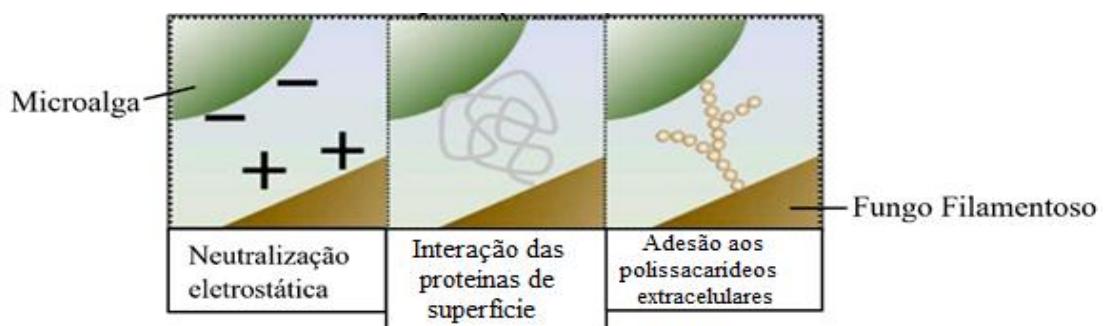
Um consorcio das cepas fúngicas *Aspergillus sp*, *Cladosporium sp*. e *Fusarium sp*. foi empregado para tratar efluentes de leite (DQO: 2288 mg.L<sup>-1</sup>; DBO: 1221 mg.L<sup>-1</sup>; Óleos e Gorduras: 153 mg.L<sup>-1</sup>; pH 6,01). As porcentagens de remoção foram de 68,9%, 70,4%, 40,5% para DQO, DBO e Óleos e gorduras, respectivamente. O pH foi aumentado para 6,5 (Hassan; El-Said; Mohamed, 2020).

### 3.3.3 Co-cultivo de microalgas e fungos para tratamento de efluentes

O sistema de co-cultivo de microalgas e fungos filamentosos é possível dada a capacidade destes microrganismos de manter uma relação simbiótica entre si, tornando-os mais estáveis e resistentes a ambientes hostis. Dessa forma, o co-cultivo destes microrganismos para o tratamento de efluentes é uma abordagem promissora (Satpati *et al.*, 2023).

A biomassa produzida neste cultivo apresenta potencial para a produção de biocombustíveis e demonstra maior eficiência na remoção de poluentes em comparação aos tratamentos biológicos realizados com um único microrganismo. Ademais, proporciona uma colheita de biomassa mais eficiente e econômica, sem a necessidade de produtos químicos. De maneira geral, as microalgas se aderem às hifas miceliais (peletização) por meio dos mecanismos de neutralização eletrostática, interação das proteínas de superfície e adesão de polissacarídeos extracelulares (Figura 6) (Wu *et al.*, 2023; Satpati *et al.*, 2023; Chu *et al.*, 2021).

**Figura 6 - Mecanismos de co-peletização entre microalgas e fungos filamentosos**

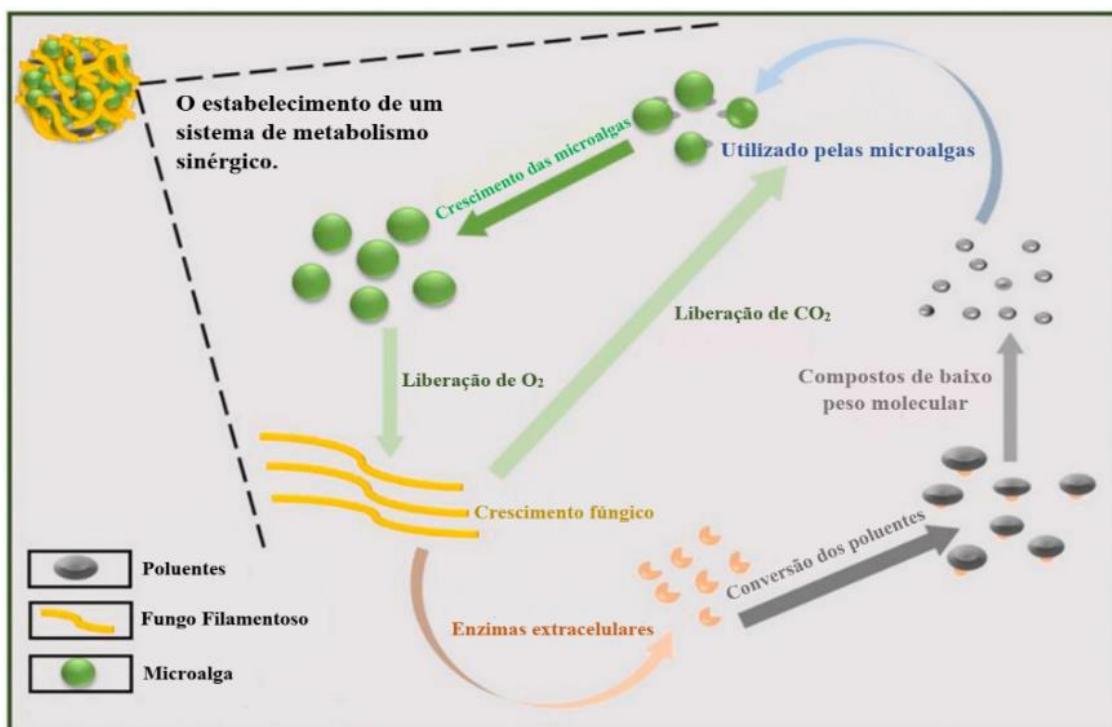


Fonte: Adaptado de Wu *et al.* (2023).

A relação sinérgica sucede-de pela troca gasosa entre as células de microalga e fungos. As microalgas realizam fotossíntese (liberando O<sub>2</sub> e consumindo CO<sub>2</sub>), enquanto os fungos filamentosos consomem O<sub>2</sub> para realizar a respiração, liberando CO<sub>2</sub>. Além disso, são liberadas enzimas fúngicas extracelulares capazes de converter macromoléculas, dificilmente absorvidas

pelas microalgas, em compostos solúveis de menor peso molecular, que passam a ser utilizados na atividade metabólica algal. Esta relação é expressa na Figura 7 (Satpati *et al.*, 2023; Chu *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2023).

**Figura 7** - Relação simbiótica entre os fungos filamentosos e as microalgas no co-cultivo.



Fonte: Adaptado de Chu *et al.* (2021).

A remoção de DQO é, em sua maior parte, realizada pelos fungos filamentosos, por serem heterotróficos, ou seja, necessitam consumir compostos orgânicos presentes no meio para seu desenvolvimento. As microalgas podem contribuir liberando enzimas como a anidrase carbônica, que converte bicarbonato do meio em CO<sub>2</sub> livre, o qual pode ser consumido pelos microrganismos heterotróficos (Satpati *et al.*, 2023; Leng *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2020). Como destacado por Yang, Li e Wang (2019), a remoção de DQO em águas residuais de melão (com DQO inicial de 11.250 mg.L<sup>-1</sup>) aumentou de 25,96% e 59% nos monossistemas de microalga *Chlorella sp.* e do fungo filamentoso *Aspergillus sp.*, respectivamente, para 70,68% no sistema de consórcio entre esses microrganismos.

A remoção de nitrogênio (N) fica por parte das microalgas. O nitrogênio pode ser encontrado no efluente no formato de nitrogênio amoniacal (NH<sub>4</sub>-N), nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). O NH<sub>4</sub>-N é rapidamente incorporado aos aminoácidos e requer menor energia para seu acúmulo, por isso é primeira fonte de nitrogênio completamente consumida. A absorção das formas oxidadas se inicia apenas na ausência total de NH<sub>4</sub>-N. Inserindo os fungos filamentosos

no sistema pode ser observado o aumento da degradação de nitrogênio por conta de sua capacidade de degradar as macromoléculas, facilitando o trabalho das microalgas (Leng *et al.*, 2021; Satpati *et al.*, 2023). Yang; Li; Wang, (2019) aumentaram a taxa de remoção de nitrogênio amoniacal de 19% para 94,72% ao introduzir o *Aspergillus sp.* ao sistema de microalgas *Chorella sp.* contendo águas residuais de melaço ( $\text{NH}_4\text{-N}$  inicial de  $170,3 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Adicionalmente, obteve uma remoção de nitrogênio total de 67,08% (NT inicial  $407,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

O consumo de fósforo (P) ocorre tanto pelo consumo dos microrganismos quanto pelas condições ambientais de pH e oxigênio dissolvido. É encontrado no efluente na forma inorgânica de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ , precipitando em pH alcalino com alta concentração de  $\text{O}_2$  dissolvido, sendo então de maior encargo das microalgas que diminuem o pH do meio, além de realizar fosforilação/fotofosfotilação. A remoção de P é melhorada no co-cultivo pela liberação de enzimas solubilizadoras de fosfato ( $\text{PO}_4\text{-P}$ ) liberadas pelos fungos (Satpati *et al.*, 2023; Leng *et al.*, 2021). O aumento da remoção de fósforo pelas microalgas com a inserção de fungos filamentosos no sistema é exemplificado em Padri *et al.* (2022) que aumentaram a remoção de P ao inserir *A. niger* no tratamento de águas residuais de mandioca ( $\text{PO}_4$ :  $23,53 \pm 1,70 \text{ mg.L}^{-1}$ ; pH:  $7,5 \pm 1,0$ ) com *C. vulgaris* de 62 para 78%.

O cultivo de *pellets* pode ocorrer de duas formas: Inocular os esporos de fungos filamentosos e as células de microalgas no meio para formação dos *pellets* ou pré-cultivar os *pellets* de microalga-fungo em caldos de cultura para, após sua formação, adicioná-los ao meio. Em ambos os casos é necessário a atenção para alguns fatores, como os citados na seção 3.2.1 (Chu *et al.*, 2021).

A seção 3.2.1 aborda a influência da intensidade luminosa no desenvolvimento das microalgas. Nesse contexto, é fundamental conhecer a faixa de luz utilizada no consórcio entre microalgas e fungos filamentosos para o tratamento de efluentes. Alguns desses valores estão apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7-** Intensidades luminosas na biorremediação por co-cultivo de microalgas e fungos filamentosos.

Co-cultivo Microalga e Fungo	Intensidade Luminosa ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Ref
Type of effluent		
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> e <i>Aspergillus oryzae</i>	Águas residuais de amido	30
<i>Scenedesmus sp.</i> e <i>Aspergillus tubingensis</i>	Efluentes secundários agroindustriais	55
<i>Chorella sp.</i> e <i>Penicillium sp.</i>	Águas residuais de carbonização hidrotérmica	60
<i>Tetradesmus obliquus</i> e <i>Cunninghamella echinulata</i>	Soro do leite	100
<i>Tetradesmus obliquus</i> e <i>Cunninghamella echinulata</i>	Água produzida de petróleo	100
<i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Pleurotus geesteranus</i>	Águas residuais da fermentação anaeróbica de esterco de porco	200
<i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Ganoderma lucidum</i>	Efluentes de biogás	200
<i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Ganoderma lucidum</i>	Águas residuais da pecuária	200
<i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Ganoderma lucidum</i>	Efluentes de biogás	225

Fonte: Autora (2024).

Complementarmente, Zorn *et al.*, (2020) cultivou o fungo filamento *Mucor circinelloides* com a microalga *Chlorella vulgaris* em intensidade luminosa de  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  obtendo um peso seco composto com 79% de microalgas, demonstrando o sucesso da co-pelletização. Li; Zhang; Yang, (2019) co-pelotizaram o fungo *A. oryzae* com a microalga *C. vulgaris* em uma relação de claro/escuro de 12/12h em  $112 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

A proporção de microalgas e fungos filamentosos no momento da inoculação também é de suma importância. Uma desproporção exacerbada de esporos ocasionará a diminuição drástica do pH, pela secreção de ácidos orgânicos, inibindo o crescimento das microalgas (Chu *et al.*, 2021). De acordo com Leng *et al.*, (2021) a co-pelletização se assemelha à peletização fúngica e por isso não ocorre em altas concentrações de esporos (fungos), sendo então recomendado uma maior proporção de microalgas no momento da inoculação.

Song *et al.* (2022) estudou 3 proporções de microalga *Chlorella pyrenoidosa* e fungo filamento *Penicillium sp.* (50:1, 500:1, 5000:1) para o tratamento de águas residuais de molho

de soja (DQO: 4440 mg.L<sup>-1</sup>; NT: 172,4 mg.L<sup>-1</sup>; PT: 24,9 mg.L<sup>-1</sup>; pH: 6,8). O rendimento de biomassa de todas as proporções foram de aproximadamente 2,8 g/L. Taxas de remoção próximas foram atingidas, com valores maiores para a razão 5000:1 de 61,67% de DQO, 25% para NT e 4,1% para PT. A relação 500:1 apresentou remoção de 59,9%, 24,4% e 4% para DQO, NT e PT, respectivamente, enquanto a proporção 50:1 removeu uma quantidade de DQO, NT e PT de 59,78%, 24,4% e 4%, respectivamente.

Wu *et al.* (2023) em uma relação de microalga:fungo 20:1 utilizando o co-cultivo das microalgas *Chlorella sorokiniana* e *Scenedesmus dimorphus* com os fungos filamentosos *Aspergillus oryzae* ou *Aspergillus niger* tratou águas residuais artificiais de suínos com concentrações iniciais de DQP, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, e PT de 1000, 120,2, e 10,6 mg/L, respectivamente. Os melhores resultados foram para o cultivo de *C. sorokiniana* com *A. oryzae* removendo 85,9%, 76,5% e 60,3% de DQO, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N e PT, respectivamente.

Todos os fatores citados anteriormente podem ser avaliados de maneira simultânea com um número reduzido de tempo e recursos utilizando as técnicas de planejamento experimental com o intuito de obter um melhor resultado na remediação (Gorbounov *et al.*, 2022).

### **3.3 Design experimental (DE)**

O impacto que as variáveis envolvidas no processo de tratamento biológico de efluentes tem na diminuição dos poluentes pode ser avaliado através de uma pesquisa utilizando o design experimental (DE) (Gorbounov *et al.*, 2022).

O design experimental, também chamado de planejamento experimental, consiste em uma série de análises estatísticas que tem o intuito de quantificar e classificar de maneira organizada e estruturada as relações entre variáveis e resultados de um fenômeno ou processo. Por meio dele, variáveis são analisadas simultaneamente com um número reduzido de experimentos, tendo assim menor custo de tempo, energia e mão de obra. O resultado final é um modelo matemático que pode fornecer condições ideais do processo, permitindo a otimização (Rodrigues; Iemma 2014; Neto; Scarminio; Bruns, 1996).

O Design de Experimentos (DE) é amplamente utilizado na indústria para a modelagem e otimização de processos industriais. Diversos estudos demonstram a aplicação dessa técnica em setores como farmacêutico, químico e em várias áreas da engenharia. Frequentemente, é empregado para modelar, otimizar, realizar triagens, comparar ou formular processos. Sua aplicação já foi reportada em investigações relacionadas à produção de biocombustíveis, processos catalíticos, aplicações eletroquímicas, processos de absorção/adsorção, oxidação

química, produção de produtos farmacêuticos, engenharia mecânica, engenharia química ambiental, além de no tratamento de água e efluentes (Lee *et al.*, 2022; Román-Ramirez; Marco, 2022).

As etapas para a implementação de um planejamento experimental consistem nas fases de planejamento, execução, análise e conclusão. Primeiramente, é definido a resposta desejada, as variáveis que serão utilizadas e qual será a faixa de variação estudada. Também é necessário definir qual o modelo experimental que será utilizado. Em seguida, inicia-se a fase de execução dos experimentos, e posteriormente da análise dos dados obtidos por meio de ferramentas estatísticas. Por fim, se obtém um modelo matemático que permitirá tirar conclusões sobre a relação entre variáveis e respostas (Jankovic; Chaudhary; Goia, 2021; Lee *et al.*, 2022).

Os modelos de DE tem o objetivo de montar combinações de variáveis. Dessa maneira, através deles é possível obter o número de execuções experimentais, representadas por uma matriz projetada. O método mais adequado para um DE é aquele que indica uma matriz de maneira não requeira um número muito alto de experimentos e que atinja o seu objetivo final, seja otimização, avaliação da interação das variáveis, triagem, entre outros (Jankovic; Chaudhary; Goia, 2021).

### 3.3.1 Conceitos gerais de planejamento experimental

Para um bom entendimento sobre DE é necessário a definição de alguns elementos essenciais. De acordo com Neto; Scarminio; Bruns, (1996), fator são as variáveis independentes controladas no sistema em estudo, os efeitos causados pelo fator, são as variáveis dependentes do sistema. As condições de operação dos fatores são nomeadas de níveis e classificados em alto (+), central (0) e baixo (-). Os experimentos são combinações dos fatores em níveis. Experimentos em iguais condições aplicadas a mesma unidade experimental múltiplas vezes são repetições, enquanto em condições iguais aplicados a unidades experimentais distintas são réplicas.

Por fim, a relação inicialmente desconhecida pode se tornar em uma aproximação de um modelo polinomial. Estas equações podem ser de grau um, como na Equação 1, ou um modelo de segundo grau, Equação 2 (Duan *et al.*, 2021; Khuri, Mukhopadhyay, 2010).

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \epsilon \quad \text{Eq (1)}$$

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i < j} \sum \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \epsilon \quad \text{Eq (2)}$$

$\beta_n$ : Coeficientes constantes  $\epsilon$ : Erro experimental.

### 3.3.2 Planejamento Fatorial

Segundo Montegomory (2005), o planejamento fatorial consiste na combinação de b níveis de k fatores. Os níveis são espaçados igualitariamente e são nomeados como nível baixo (-1), nível alto (+1) e o nível central ou intermediário (0). O número de execuções realizados nesse experimento é de  $b^k$ , caso seja um planejamento fatorial completo (PFC). Para altos valores de k, o número de experimentos é alto, pode-se então realizar um planejamento fatorial fracionado (PFF) de  $b^{k-p}$ , onde p representa o grau de fracionamento do experimento. Este planejamento pode obter modelos polinomiais de primeira ou segunda ordem, a depender no número de níveis escolhidos.

Estudos na literatura utilizaram o planejamento fatorial para avaliar o tratamento biológico de efluentes. Raffa (2020) investigou como o teor de água ( $x_1$ ) e a relação carbono-nitrogênio ( $x_2$ ) afetam a porcentagem de óleo diesel removido (y) durante a biorremediação aeróbica da remoção de óleo diesel por microrganismos indígenas. O estudo foi realizado em 3 níveis ( $b=3$ ), contendo 2 fatores ( $k=2$ ), sendo requerido 12 sequencias experimentais. Após a análise estatística foi obtido o modelo de terceira ordem representado abaixo:

$$y = 50,28 - 21,36x_1 + 1,011x_2 + 1,029x_{12} + 0,1244x_1 \cdot x_2 - 0,01006x_{22} \\ - 0,007591x_{12} \cdot x_2 + 0,0001458x_1 \cdot x_{22} + 0,00001472 \cdot x_{23}$$

De acordo com os termos lineares, foi notado que a concentração de nutrientes teve um efeito positivo na remoção de diesel ( $\beta_2=1,011$ ), enquanto o teor de água teve influência negativa ( $\beta_1=-21,36$ ). Os termos não lineares tiveram um valor muito pequeno, logo podem ser considerados insignificantes.

Nacer (2021), utilizou o planejamento fatorial  $2^4$  para avaliar a influênciada temperatura (A), concentração de cromo (B), pH (C) e tempo de contato (D) na remoção de cromo por bactérias indígenas (Y). Após a realização de testes estatísticos, eles obtiveram o seguinte modelo:

$$Y = 43.148 + 3.444A - 10.820B - 28.173C + 8.745D - 6.335AC - 5.606 + 5.575BC$$

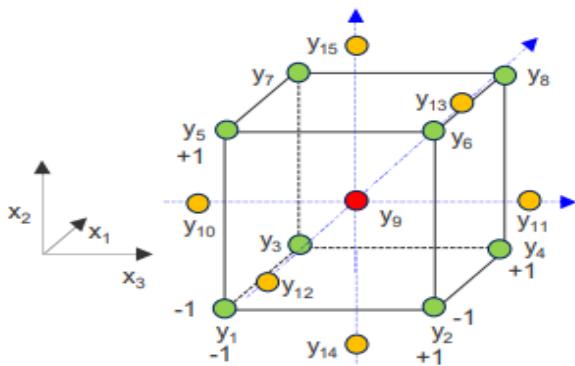
De acordo com a equação, os termos lineares da temperatura, do tempo de contato e da interação entre concentração de cromo e pH (BC) apresentaram sinais positivos, demonstrando que causam efeitos favoráveis para a remoção de cromo. Ao contrario dos termos lineares da concentração de cromo, pH e interação de temperatura com o pH (AC) e com o tempo de contato (AD). Sendo assim, uma elevada temperatura e alto tempo de retenção, aumentarão a biodegradação de cromo. Enquanto, o aumento do pH e da concentração inicial de cromo, irá diminuir a eficiência do processo.

### 3.3.3 Planejamento Composto Central (PCC)

O planejamento composto central é um modelo citado pela primeira vez em Box e Wilson (1951). Através dele se obtém um modelo polinomial de segunda ordem, este planejamento é o mais comumente utilizado para a obtenção de superfície de resposta. O modelo se divide nas três partes descritas a seguir.

O ponto central é a origem do sistema de projeto/coordenadas, enquanto os pontos fatoriais provém de um planejamento factorial completo ( $2^k$ ) ou fracionado ( $2^{k-p}$ ), onde são avaliados os níveis alto e baixo (+1 e -1). Já os axiais (-1,76 e +1,76), são pontos localizados a uma distância  $\alpha$  do centro de projeto nas direções dos eixos de cada variável de controle. O modelo de PCC com os pontos fatoriais ortogonais, pontos axiais e o ponto central é mostrado na Figura 8.

**Figura 8-** Representação gráfica do Planejamento de Ponto Central de 3 fatores em 2 níveis



Fonte: Gregor *et al.* (2023).

Na primeira fase do PCC, os pontos fatoriais são estudados com o intuito de obter um modelo de primeira ordem, avaliando assim a significância dos fatores em estudo. A fase subsequente, analisa os pontos axiais, estes iram levantar informações que possibilitam a definição de condições ótimas de operação. Enquanto os experimentos de repetição dos pontos centrais, estudam o nível de confiabilidade do estudo por meio do erro experimental (Khuri; Mukhopadhyay, 2010).

O PCC já foi aplicado em estudos para a análise e otimização de tratamento biológico de alguns efluentes. El-sesy e Ibrahim (2021), otimizaram o processo de biorremediação de águas residuais contendo nitrato por cepas imobilizadas da bactéria *Pseudomonas purida* pelo método planejamento composto central. A concentração de inóculo bacteriano (A), concentração de alginato (B), concentração de nitrato (C), pH (D) e temperatura (E) foram escolhidos como os

fatores e foram estudados em 5 níveis: mínimo (- $\alpha$ ), baixo (-1), central (0), alto (+1) e máximo (+ $\alpha$ ), totalizando 32 experimentos. Ao final do estudo, foi obtido o modelo matemático a seguir.

#### %Remoção de nitrato

$$\begin{aligned} &= 66,61 + 1,708A + 9,49B - 8,61C + 6,16C + 6,16D + 3,03E \\ &+ 2,55A * A + 0,24B * B + 2,595C * C + 4,157D * D + 7,87E * E \\ &+ 2,28A * B + 6,44A * C - 5,46A * D + 5,55A * E + 6,07B \\ &* C - 5,48B * D + 7,30B * E + 3,73C * D + 0,20C * E - 9,88D * E \end{aligned}$$

De acordo com as análises estatísticas (ANOVA), todos os termos lineares apresentaram significância para a remoção de nitrato, logo, todos os fatores escolhidos afetam o resultado final. Entretanto, as interação entre eles não apresentaram grau de relevância. Assim, o estudo concluiu que, para uma maior remoção de nitrato de águas residuais, as melhores condições são de 3 g.L<sup>-1</sup> de concentração de inóculo bacteriano, imobilizado em uma concentração de alginato de sódio de 2% e nitrato de 400 mg.L<sup>-1</sup> em pH 7 e temperatura de 35°C. Estas condições foram aplicadas para remoção de nitrato de efluentes de piscicultura (NH<sub>3</sub>: 0,73 mg.L<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub>: 20 mg.L<sup>-1</sup>; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 38 mg.L<sup>-1</sup>) atingindo uma remoção de 82% durante as primeiras 24 horas de tratamento.

Mohammadi *et al.* (2021), estudou a remoção do antibiótico amoxilina de solo contaminado, utilizando o fungo *Aspergillus flavus*. O estudo seguiu o planejamento composto central. Os fatores escolhidos foram temperatura (T), pH do solo (pH), razão de *Aspergillus flavus* e resíduos biológicos (M/F), concentração de nitrogênio (N) e concentração de fosfato (P) em 5 níveis. Um modelo polinomial foi encontrado. As condições ótimas encontradas são de 33°C, 6.5, 0.01 mg.g<sup>-1</sup>, 30% e 30%, respectivamente. Após uma análise estatística com a ANOVA, foi concluído que a relação de M/F é a mais significativa para a remoção de amoxilina em relações as outras. Seguida pelo pH, que também possui um grau de importância. O fator que menos influencia o processo é a concentração de nitrato (N).

#### 3.3.4 Análise de variância (ANOVA)

Ao se obter um modelo matemático é imprescindível estudar a qualidade do seu ajuste e a significância do modelo encontrado. Isto pode ser possível utilizando o teste estatístico conhecido como Análise de Variância (ANOVA). O teste verifica a significância dos fatores nas respostas do sistema e a diferença entre os valores médios (St>Hle; Wold, 1989).

Para um modelo matemático encontrado por algum modelo DE é necessário avaliar se a variável resposta depende apenas dos fatores lineares ou se as interações entre eles, também afetam o resultado final. De acordo com Jankovic, Chaudhary e Goia (2021) para esta análise

é preciso, inicialmente, calcular a soma total dos quadrados ( $SQ_T$ ) que equivale à soma dos quadrados das diferenças entre cada execução  $x_{ijkl}$  e a média geral  $\bar{x}$ . Também é preciso calcular, a soma dos quadrados dos erros ( $SQ_e$ ) quantificada pela soma das diferenças quadradas entre as execuções individuais e as médias do grupo. Por meio deste termo, é possível saber a extensão de aleatoriedade, que se for alta, indica que a significância estatística dos fatores para resposta provavelmente é muito baixa.

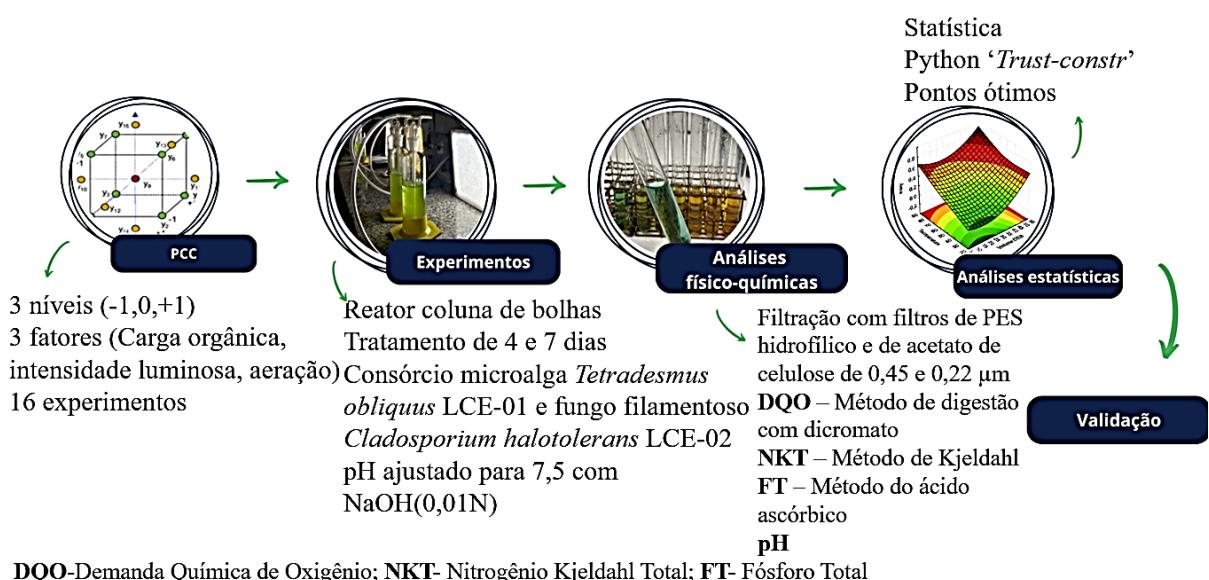
### 3.3.5 Metodologia de superfície de resposta (MRS)

A metodologia de superfície de resposta, surgiu em 1951, quando Box e Wilson procuraram modos de otimizar reações químicas para obter um maior nível de pureza, com alto rendimento e custo baixo. Essa técnica consiste na plotagem do modelo matemático obtido de combinações de um planejamento experimental, obtendo assim uma superfície de resposta.

## 4 MÉTODOLOGIA

A princípio, foi realizada a coleta e caracterização físico-química do soro do leite, visando à quantificação de sua carga poluidora. Os valores de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrogênio Total (NT) e Fósforo Total (FT) foram determinados. Além disso, as cepas de microalga e fungo filamentoso escolhidos para o desenvolvimento do estudo foram preparadas. Foi utilizado um planejamento composto central para a definição das diferentes condições de tratamento, no qual o consórcio microalga-fungo foi inoculado. Desta forma, as amostras coletadas foram caracterizadas de acordo com as análises citadas anteriormente e os dados obtidos foram analisados para a modelagem de um modelo matemático. Por fim, a partir do modelo matemático, foi obtido um ponto ótimo de tratamento de soro de leite, que foi validado. Um fluxograma da metodologia é ilustrado na Figura 9.

**Figura 9-** Fluxograma das etapas realizadas para o desenvolvimento da pesquisa



Fonte: Autora (2025)

### 4.1 Espécies de fungo filamentoso e microalga

A microalga utilizada foi a espécie *Tetradesmus obliquus* sp. LCE-01 (uma espécie nativa do Nordeste do Brasil) (De Andrade *et al.*, 2023), mantida em meio solidificado de ágar nutritivo (Kasvi®) e cultivadas em câmara de germinação (SolidSteel®) sob intensidade de iluminação de  $100 \mu\text{mol fôtons.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 12:12 h e temperatura constante de 27°C. A inoculação em torno de  $50 \pm 12,5 \text{ mg.L}^{-1}$  de microalga foi realizada por meio de 5 alçadas retiradas de diferentes pontos da cultura (Medeiros *et al.*, 2024; Dos Santos *et al.*, 2024; De Andrade *et al.*, 2024).

Em relação à espécie de fungo filamentoso, se utilizou o *Cladosporium haloterans* isolado por Santos (2023) de um sistema aberto de tratamento de efluente de laticínio pela *Tetradesmus obliquus* e, posteriormente, identificado a partir de uma caracterização molecular, realizada em trabalhos seguintes do grupo de pesquisa. A cepa em questão foi mantida em meio Sabourard, esterilizado à 121°C, 1 atm por 15 min em autoclave, e após seu crescimento, com um período de 10 a 14 dias a temperatura ambiente, os esporos foram coletados em solução estéril de Triton 0,1% para formação da suspensão de esporos. Em seguida, utilizando o método de contagem em câmera de Neubauer, a concentração de esporos foi quantificada, permitindo que a concentração de esporos no efluente fosse de  $10^{-3}$  esporos. mL<sup>-1</sup><sub>efluente</sub> (Medeiros *et al.*, 2024; Dos Santos *et al.*, 2024; De Andrade *et al.*, 2024).

#### **4.2 Efluente**

O soro do leite foi coletado da Ducamp fábrica de produtos de laticínios situada no município de Maceió – Alagoas, em setembro de 2023. É proveniente da produção de queijo. Foi conduzido ao Laboratório de Bioprocessos (LABIO), localizado no Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas, onde passou por um tratamento primário para a remoção de sólidos suspensos. O efluente foi armazenado em temperaturas entre -18 a -12 °C até ser inserido ao processo. As concentrações de carga orgânica do efluente foram semelhantes às reportadas na literatura, correspondendo às cargas orgânicas típicas de tratamentos terciários. O efluente foi suplementado com nitrogênio no formato de sulfato de amônio NH<sub>3</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (10 g.L<sup>-1</sup>) (Medeiros *et al.*, 2024; Dos Santos *et al.*, 2024).

#### **4.3 Planejamento Experimental**

O desenvolvimento experimental foi formulado para analisar a influência das variáveis independentes: carga orgânica, intensidade luminosa e taxa de aeração em três níveis (alto, central e baixo) na eficiência na remoção dos contaminantes do soro do leite DQO, NT e FT, considerados variáveis dependentes (Figura 8). Os níveis escolhidos foram baseados na faixa de valores encontrados na literatura discutidos na seção 3.2.1.

**Tabela 8** - Variáveis independentes e níveis investigados no experimento.

Fatores	Níveis				
	-1,76	-1	0	+1	+1,76
Carga Orgânica como DQO ( $\text{mg.L}^{-1}$ )*	500	1200	2100	3000	3900
Intensidade Luminosa ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	12	50	100	150	188
Taxa de aeração (vvm)	1,12	1,5	2	2,5	3

DQO: Demanda Química de Oxigênio. Embora a carga orgânica representada pela DQO seja utilizada nesse trabalho, é importante enfatizar que ela vem acompanhada de uma concentração de nitrogênio total e de fósforo total, também distribuídos de forma proporcional entre os níveis.

Fonte: Autora (2024).

O modelo escolhido para o estudo foi o Planejamento Composto Central que resultou em 16 combinações de carga orgânica, intensidade luminosa e taxa de aeração. Ao fim dos experimentos, foram realizadas análises estatísticas dos dados levantados, utilizando a análise de variância (ANOVA), software Statistica e Python com o intuito de avaliar o modelo matemático obtido.

#### 4.4 Sistema de Tratamento

A configuração utilizou frascos vítreos cilíndricos Drechsel de 500 mL (60 mm de diâmetro externo), os quais simularam o comportamento de um reator tubular aerado e receberam 400 mL de volume do efluente (Volume útil). Os biorreatores contaram com o fornecimento de iluminação artificial lateral (Plafon LED 25W 6500K), medida com um radiômetro Delta Ohm 2302, e aeração constante fornecida aos sistema através do uso de um compressor (JEBO 660,  $2 \text{ L.min}^{-1}$ ), sendo a vazão de ar mensurada por um medidor de vazão (LTZ-6T M-6) e controlada (Medeiros *et al.*, 2024). O tempo de tratamento foi de 4 e 7 dias, com coletas no início e no final do processo, e o pH foi mensurado ao longo do tratamento e ajustado para 7,5 quando necessário (Medeiros *et al.*, 2024; Dos Santos *et al.*, 2024; De Andrade *et al.*, 2024) O sistema de tratamento é mostrado na Figura 10.

**Figura 10** - Sistema de tratamento de soro do leite em um reator coluna de bolhas com intensidade luminosa constante.



Fonte: Autora (2025).

#### 4.5 Caracterização físico-química

Foram quantificados a demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total (NT), fósforo total (FT) e pH. Após a coleta, as amostras passaram por centrifugação a 3.500 rpm por 30 minutos (Centrífuga ACB Labor Dry-Bloch) para separar a fase sólida (lodo microbiano) da líquida (efluente tratado). Para remover eventuais sólidos residuais, o efluente tratado foi filtrado em filtros de PES (polietersulfona) hidrofílico e de acetato de celulose de 0,45 e 0,22 µm, respectivamente (Medeiros *et al.*, 2024; Dos Santos *et al.*, 2024; De Andrade *et al.*, 2024).

##### 4.5.1 Método de digestão com dicromato – Determinação da demanda química de oxigênio

Os tubos de ensaio foram lavados com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% (v/v) para eliminar interferentes de amostras anteriores. Em seguida, foram adicionados aos tubos 2,5 mL da amostra, 1,5 mL da solução de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio) e 3,5 mL do reagente de ácido sulfúrico (sulfato de prata diluído em ácido sulfúrico) (AOAC, 2002). Os tubos foram agitados e inseridos no bloco digestor a 150°C por 2 horas. Após o período de digestão, as amostras foram agitadas, resfriadas e submetidas a leituras no espectrofotômetro com comprimento de onda de 600 nm (Shimadzu, UVmini 1240). Os valores de absorbância foram inseridos na Equação 3 ( $R^2=0,99$ ) para obtenção da quantidade de DQO presente na amostra.

$$DQO \left( \frac{mg}{L} \right) = 3059,5 * Abs * Diluição \quad \text{Eq (3)}$$

Onde: Abs = Valor da Absorbância obtida em espectrofotômetro;  
 Diluição = Diluição da amostra.

#### **4.5.2 Método de Kjeldahl adaptado – Determinação de nitrogênio total**

Para amostras de menores concentrações de nitrogênio total, primeiramente, tivemos a etapa de digestão que visa pipetar em tubos de Kjeldahl 7,5 mL da amostra com pH ajustados entre 6 e 8, com 10 mL da solução reagente e 4 a 5 contas de vidro. Os tubos devem ser levados a digestão em 285°C até mudarem a tonalidade. Em seguida, ocorre a etapa de destilação onde se deve transferir 30 mL de água para os tubos de Kjeldahl com amostras a temperatura ambiente. Em seguida, deve-se inserir 10 mL de Hidróxido-Tiosulfato ao destilador e no mesmo adicionar um *erlenmeyer* contendo 10 mL de absorvente de ácido bórico (Apha; Awwa; Wef, 2017). E por fim, iniciar a destilação. Para terminar, a amostra destilada deve ser titulada com ácido sulfúrico 0,002N até sua viragem. Os valores obtidos devem ser substituídos na Equação 4.1.

$$NT \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{(Va - 0,2) \times 0,9 \times 28}{7,5} \quad \text{Eq (4.1)}$$

Onde:

Va – Volume da solução de ácido sulfúrico gasto na titulação da amostra, em mililitros;

Para amostras com maiores concentrações de nitrogênio total, foi utilizada uma adaptação do Método de Kjeldahl para efluentes agroindustriais (Medeiros *et al.*, 2024; Dos Santos *et al.*, 2024), assim, 5 mL da amostra, 1g de mistura catalítica e 10 mL de ácido sulfúrico PA são adicionados em tubos de Kjeldahl e em seguida aquecidos em bloco digestor a 310°C (TECNAL, modelo TE007 MP). Após a digestão são adicionados aos tubos um pouco de água destilada e 2 gotas de fenolftaleína 1% para a etapa de digestão no destilador de nitrogênio (TECNAL, modelo TE-0363), NaOH 40% é inserido aos tubos pelo destilador até mudança de pH (mudança da coloração para rosa). São coletados 100 mL de amostra em um erlenmeyer de 250 mL, contendo 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%. Por fim, a solução do erlenmeyer foi titulada com ácido clorídrico 0,001 N padronizado (Apha; Awwa; Wef, 2017). A equação utilizada é mostrada abaixo.

$$NT \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{Va \times 0,01 \times 1400}{5} \quad \text{Eq (4.2)}$$

Onde:

*V<sub>a</sub>* – Volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, em mililitros;

#### **4.5.3 Método do ácido ascórbico – Análise de fósforo total**

Em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL da amostra previamente filtrada e 0,4 mL da solução desenvolvedora de cor. Após 30 min, é realizado a leituras em espectrofotômetro com comprimento de onda de 706 nm (Shimadzu, UV-mini 1240) (Apha; Awwa; Wef 2017). Os resultados obtidos são substituídos na Equação 5 ( $R^2=0,99$ ).

$$FT \left( \frac{mg}{L} \right) = 9,0492 * Abs * Diluição \quad \text{Eq (5)}$$

Onde: Abs = Valor da Absorbância obtida em espectrofotômetro;

Diluição = Diluição da amostra.

#### **4.5.5 Determinação e acompanhamento do pH**

Relizado através de um pHmetro previamente calibrado (tampões pH 4,0 e pH 7,0) de acordo com as instruções do manual do fabricante (TECNAL). O acompanhamento foi realizado diariamente utilizando o pHmetro, sendo ajustado quando necessário para 7,5 com hidróxido de sódio (NaOH) a concentração de 0,01 N (Medeiros *et al.*, 2024; Dos Santos *et al.*, 2024; De Andrade *et al.*, 2024).

#### **4.6 Validação do modelo matemático**

Os modelos matemáticos obtidos forneceram um ponto ótimo de tratamento do soro do leite e valores residuais de DQO, FT e NT. Visando a validação destes modelos, o sistema de tratamento foi montado conforme o descrito na seção 4.4, com as condições de carga orgânica, intensidade luminosa e aeração fornecidas pelo modelo.

Por fim, a concentração de poluentes residuais foi medida e comparada com os valores fornecidos pelos modelos matemáticos, para avaliar a sua coerência. Além disso, os resultados obtidos foram comparados com um sistema de tratamento de controle, que utiliza apenas os contaminantes naturais presentes no efluente para a remoção de DQO, FT e NT. (Geed; Verma *et al.* 2024; Medeiros *et al.*, 2024).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção os resultados parciais serão ilustrados e discutidos, iniciando com a caracterização do soro do leite, seguido da influência dos fatores no tratamento biológico do soro do leite e da análise da influência do pH. Por fim, é discutido as análises estatísticas e a metodologia de superfície de resposta.

### 5.1 Cargas orgânicas do efluente de soro do leite

Na Tabela 9, temos as características físico-químicas em diferentes cargas orgânicas que foram utilizadas no trabalho para o planejamento composto central.

**Tabela 9** - Tabela com os valores de carga orgânica inicial e proporção de DQO e NT para cada nível do planejamento composto central.

Níveis	-1,76	-1	0	+1	+1,76
<b>DQO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	504,82±3,82	1200,85±11,4	2019,27±7,65	3044,2± 7,65	3946,76±15,30
<b>FT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	6,009±0,04	12,13±0,09	24,03±0,02	28,37 ±0,02	53,662±0,136
<b>NT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	31,64±0,50	86,80±0,10	118,30±0,15	165,20±0,10	188,79±0,20
<b>DQO: NT</b>	16	14	17	18	21
<b>pH</b>			6,02±0,16		

DQO: Demanda Química de Oxigênio; FT: Fósforo Total; NT: Nitrogênio Total;

DQO:NT: Relação de Demanda Química de Oxigênio e Nitrogênio Total

Fonte: Autora, (2025).

A concentração de carga orgânica em cada nível do estudo se assemelha ao residual observado em processos de tratamento anaeróbico. Charalambous *et al.* (2020), ao tratar soro de leite com uma concentração inicial de DQO de 61.870 mg.L<sup>-1</sup> em um ciclo de 91 dias, obteve valores residuais de DQO entre 3.154 e 612 mg.L<sup>-1</sup>. Da mesma forma, Dereli *et al.* (2019), registrou uma DQO residual de 2.920 mg.L<sup>-1</sup> ao tratar soro de leite em um biorreator anaeróbico com carga orgânica inicial de 29.200 mg.L<sup>-1</sup>. Esses resultados indicam que o tratamento anaeróbico do soro de leite, embora eficiente na remoção de matéria orgânica, ainda demanda de uma etapa de tratamento posterior (tratamento terciário), como um processo aeróbio, por exemplo, que consegue remover tanto matéria orgânica como nutrientes, fazendo com que o efluente tratado possa atingir as condições ideais de descarte das legislações vigentes.

Adicionalmente, como esse estudo se propõe a melhorar a eficiência do processo remediativo, é importante a princípio buscar um balanceamento dos compostos (DQO, FT e NT) presentes no efluentes utilizado, para que assim os microrganismos consigam crescer efetivamente e não aconteça o consumo excessivo de um composto enquanto outros

permanecam no meio sem serem biodegradados. Os resultados de Gurd; Villa; Jefferson (2020) mostraram que no tratamento de efluentes a relação entre DQO:NT pode interferir na degradação dos poluentes. Nishshanka *et al.*, (2023) reforça a necessidade de suplementação para um bom crescimento de biomassa, em especial da microalga, assim como Sar *et al.* (2020), que reduziu o tempo de crescimento de fungos filamentosos ao suplementar o meio com nitrogênio no formato de nitrato de sódio NaNO<sub>3</sub>. Sendo assim, neste trabalho a relação DQO:NT foi mantida próximo de 20 para garantir a eficiência do processo (Diaz *et al.*, 2019).

## 5.2 Influência dos fatores no tratamento biológico do soro do leite

Inicialmente, serão discutidos os resultados obtidos para o tratamento biológico do efluente de soro do leite ao longo de 7 dias. A Tabela 10 apresenta os dados obtidos.

Verificou-se que maiores concentrações de carga orgânica nos pontos axiais resultam em uma maior eficiência na remoção de DQO. Para uma carga orgânica de 3687 mg.L<sup>-1</sup>, a remoção atingiu 84,30%, enquanto para uma carga de 512 mg.L<sup>-1</sup>, a remoção foi de 75,08%. No entanto, a carga residual de DQO para a maior concentração foi de 619,55 mg.L<sup>-1</sup>, enquanto para a menor atingiu 123,91 mg.L<sup>-1</sup>, sugerindo que menores concentrações de carga orgânica tendem a resultar em menores poluentes residuais. Esse comportamento pode ser atribuído ao consumo de nutrientes dentro do mesmo intervalo de tempo, restando menos compostos para cargas orgânicas menores em comparação a meios com elevada concentração de nutrientes (Negi; Das, 2023; Maltsev; Kulikovskiy; Maltseva, 2023).

O mesmo padrão foi observado na remoção de fósforo total (FT) sob as mesmas condições. A concentração de FT de 6 mg.L<sup>-1</sup> obteve um residual de 0,66 mg.L<sup>-1</sup> e removendo 88,87%, já a carga de 53,66 mg.L<sup>-1</sup> removeu 96,48% restando 1,89 mg.L<sup>-1</sup>. Medeiros *et al.* (2024) estudou a remoção de DQO, FT e NT de um co-cultivo microalga-fungo em cargas orgânicas de 1940 mg.L<sup>-1</sup>(C1) e 223 mg.L<sup>-1</sup> (C2) com 7 dias de tratamento, obtendo uma taxa de remoção de 93,7%, 77,1% e 91,7% para a remoção de DQO, FT e NT, respectivamente, para a primeira concentração e de 53,8%, 62,9% e 90,9% para a segunda, entretanto as concentrações residuais de poluentes foram menores na concentração C2, sendo 103,78 mg.L<sup>-1</sup> para DQO, 4,83 mg.L<sup>-1</sup> para NT e 0,3 para FT, enquanto para a C1, os residuais foram 121 mg.L<sup>-1</sup>, 60,88 mg.L<sup>-1</sup> e 1,05 mg.L<sup>-1</sup>, para DQO NT e FT, respectivamente. Desse modo, vemos que embora para as cargas residuais maiores tenham uma maior percentual de remoção, isto não implica no alcance das normas legislativas para as concentrações de poluentes residuais.

**Tabela 10** - Resultados da DQO residual, FT residual e NT residual do tratamento do soro do leite durante 7 dias.

Exp	Carga Orgânica		Luz		Taxa de aeração		DQO		FT		NT	
	(mg.L <sup>-1</sup> )		(\mu mol.m <sup>-2</sup> . s <sup>-1</sup> )		(vvm)		Real	Residual	%	Real	Residual	%
	Códificado	Real	Códificado	Real	Códificado	Real	Residual	%	Residual	%	Residual	%
1	-1	1200	-1	50	-1	1,5	102,49±0,76	91,46±0,00	0,05±0,00	99,55±0,01	7,56±0,09	91,51±0,00
2	-1	1200	-1	50	+1	2,5	159,09±3,06	86,75±0,01	0,63±0,01	94,81±0,00	10,08±0,13	88,68±0,00
3	-1	1200	+1	150	-1	1,5	163,68±0,76	86,37±0,02	0,19±0,00	98,28±0,02	9,24±0,11	89,62±0,01
4	-1	1200	+1	150	+1	2,5	230,99±3,82	80,76±0,00	0,55±0,00	95,45±0,00	5,04±0,06	94,34±0,04
5	+1	3000	-1	50	-1	1,5	338,67±1,91	88,82±0,04	3,34±0,05	88,23±0,00	58,80±0,73	65,30±0,00
6	+1	3000	-1	50	+1	2,5	382,44±0,00	97,44±0,05	0,87±0,00	96,92±0,01	96,60±1,2	42,99±0,05
7	+1	3000	+1	150	-1	1,5	420,68±7,65	86,18±0,01	3,87±0,01	86,36±0,00	57,40±0,71	66,12±0,00
8	+1	3000	+1	150	+1	2,5	455,10±9,56	85,05±0,00	1,29±0,00	95,45±0,01	47,60±0,60	71,91±0,00
9	-1,76	512	0	100	0	2	123,91±0,76	75,08±0,00	0,66±0,05	88,87±0,00	4,70±0,06	85,50±0,02
10	+1,76	3687	0	100	0	2	619,55±0,00	84,30±0,02	1,89±0,03	96,48±0,04	68,60±0,86	64,57±0,01
11	0	2100	-1,76	12	0	2	293,71±1,53	84,88±0,03	2,52±0,00	89,51±0,01	42,28±0,53	65,15±0,00
12	0	2100	+1,76	188	0	2	215,69±7,00	88,90±0,05	1,62±0,00	93,25±0,03	49,00±0,61	59,62±0,04
13	0	2100	0	100	-1,76	1,12	615,72±1,91	69,74±0,01	1,79±0,01	92,54±0,00	39,20±0,5	67,69±0,00
14	0	2100	0	100	+1,76	3	611,90±0,00	69,92±0,00	0,59±0,05	97,53±0,00	29,54±0,37	75,65±0,00
15 (R)	0	2100	0	100	0	2	319,72±0,76	84,29±0,00	0,75±0,00	96,89±0,00	23,66±0,60	80,50±0,00
16 (R)	0	2100	0	100	0	2	317,42±3,82	81,20±0,00	0,70±0,00	97,10±0,00	22,54±0,28	81,42±0,01

Fonte: Autora (2025).

Em relação a influência da aeração na remoção de DQO, nas aerações de 3 vvm a remoção de DQO atingiu cerca de 69 % com concentração residual de  $611,9 \text{ mg.L}^{-1}$ , enquanto em uma mesma condição de carga orgânica a aeração de 2 vvm atingiu 84 % de remoção e concentração residual de  $317,42 \text{ mg. L}^{-1}$ . Este comportamento condiz com o apresentado pela literatura, visto que altas taxas de aeração ocasionam maior agitação no sistema, aumentando a tensão de cisalhamento, causando danos as células fúngicas, principais responsáveis pela biodegradação de carga orgânica. Ademais, a aeração de 1,12 vvm demonstrou uma remoção de cerca de 69% e residual de  $615,72 \text{ g.L}^{-1}$ , dado que possui menor concentração de oxigênio dissolvido no meio, elemento essencial para a respiração celular dos fungos filamentosos. Também, a aeração fornece uma menor turbulência do sistema, fazendo com que os microrganismos não acessem toda o líquido do reator de forma uniforme (Chilakamarry *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022).

O crescimento do fungo *Penicillium citrinum* e a remoção de DQO de águas residuais de fábricas de papel ( $3250 \text{ mg L}^{-1}$ ) foi estudado por Namboodiri *et al.* (2022) em aerações de 0,5 vvm, 1 vvm e 2 vvm. As maiores aerações de 1 e 2 vvm apresentaram resultados satisfatórios com o máximo de crescimento de biomassa de  $933 \text{ mg L}^{-1}$  e 71% de remoção máxima de DQO (DQO residual próximo de  $942,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ) para a aeração de 2 vvm. Os dados obtidos neste trabalho também demonstram que a DQO residual é menor para aerações de 1,5 vvm em comparação a aeração de 2,5 vvm. Lin *et al.* (2006) estudou o crescimento do *Penicillium citrinum* em aerações de 0,5 a 2,5 vvm, obtendo crescimento satisfatório da biomassa para a aeração de 1 e 2 vvm, sendo a de 1,5 vvm com maior crescimento, e menor crescimento para as aerações de 0,5 e 2,5 vvm. De Andrade *et al.* (2023) cultivou a microalga-fungo em consórcio para o tratamento de água produzida de petróleo utilizando a aeração de 1,5 vvm e alcançando remoções entre 90 e 95% de hidrocarbonetos de petróleo (312 a 2.500  $\text{mg L}^{-1}$ ).

No que se refere à influência da intensidade luminosa na remoção de DQO, observa-se que a remoção foi maior nos pontos axiais ( $12 \text{ e } 188 \text{ } \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) em comparação ao ponto central ( $100 \text{ } \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ). Esse comportamento pode ser explicado pela capacidade da microalga de realizar mixotrofia em condições de escassez luminosidade ou em condições de estresse celular, como o excesso de alta luminosidade, desse modo a DQO passa a ser consumido tanto pela microalga como pelo fungo filamentoso, aumentando a eficiência do processo (Maltsev; Kulikovskiy; Maltseva, 2023). Kiran e Mohan (2022) cultivaram a microalga *Tetradesmus sp.* sob condições mixotróficas com iluminação de  $200 \text{ } \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

com intervalos de claro:escuro de 12:12h obtendo um alto rendimento de biomassa. Do mesmo modo De Andrade *et al.* (2023), utilizou a *Tetraedesmus obliquus* para remoção de DQO de efluente de laticínios (528 a 2.115 mg.L<sup>-1</sup>) durante 14 dias em diferentes condições luminosas, obtendo melhores resultados nas intensidades de 100 e 200 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> atingindo cerca de 80% de remoção. Xu *et al.* (2022) tratou águas residuais com co-cultivo de microalga e fungo *Chlorella vulgaris* e *Pleurotus geesteranu* em intensidade luminosa de 200 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> com DQO inicial de 1.215,9 mg.L<sup>-1</sup> reduzindo para cerca de 170 mg.L<sup>-1</sup> com taxa de remoção de 86% em 7 dias de tratamento. Wang *et al.* (2022) aumentaram a eficiência da remoção de DQO cultivando *Chlorella pyrenoidosa* e *Aspergillus oryzae* em águas residuais de amido a intensidade luminosa de 30 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> reduzindo de 12.266 a 971,92 mg.L<sup>-1</sup> e taxa de remoção de 92,08% em 3 dias de tratamento.

Da mesma forma, nos pontos fatoriais (de -1 e +1), a remoção foi superior nas condições de 50 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> em comparação a 150 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> indo de acordo com os estudos de Maneechote *et al.*, (2023), onde a microalga *Scenedesmus sp.* foi co-cultivada com o fungo filamentoso *Aspergillus tubingensis* em intensidade luminosa de 55 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> para o tratar efluentes secundários de agroindústrias com cargas orgânicas entre 4.758 e 3.933 mg.L<sup>-1</sup> obtiveram uma remoção de DQO de 79 a 95%, respectivamente.

A influência da intensidade luminosa no consumo de FT foi mais evidente nas intensidades de 12, 188 e 100 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, resultando em concentrações residuais de FT de 2,52 mg.L<sup>-1</sup>, 1,62 mg.L<sup>-1</sup> e 0,7 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Conforme a literatura, em baixas intensidades luminosas, a microalga consome menos fósforo devido à predominância da mixotrofia. Além disso, a remoção de fósforo também é reduzida em intensidades luminosas próximas de 200 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, possivelmente devido à fotoinibição, que no caso da *Tetraedesmus obliquus*, ocorre em torno de 150 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> (Martinez-Ruiz *et al.*, 2023). A fotoinibição das microalgas pode ser mitigada pelo seu co-cultivo com outros microrganismos, como em Chen *et al.* (2022), que co-cultivou bactérias e microalgas para estas apresentarem maior resistência ao estresse de luz, o mesmo pode ser realizado pelos fungos filamentosos através da co-pelletização com as microalgas (Whang *et al.*, 2022), assim é possível que a microalga tenha continuado removendo os nutrientes em condições de estresse, porém com menor eficiência quando comparado a pontos abaixo de sua saturação.

Um comportamento similar ao de FT foi observado para a remoção de NT, com residuais de 49 mgL<sup>-1</sup> e 23 mgL<sup>-1</sup> para 188 e 100 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, respectivamente. Mas para a remoção de NT em 12 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> o residual foi de 42,28 mg.L<sup>-1</sup>. Isto, de acordo com Su,

Yanyan (2021) pode ocorrer devido que as microalgas podem realizar uma “captura súbita” de nitrogênio orgânico na escassez de luz.

Nos pontos axiais de aeração de 1,12 e 3 vvm, tanto para FT quanto para NT, observou-se uma maior concentração residual em condições de baixa aeração (FT residual  $2,49 \pm 0,01$  mg.L $^{-1}$ ; NT  $56,14 \pm 0,7$  mg.L $^{-1}$ ). Em contrapartida, à medida que a aeração aumenta, a concentração residual tende a diminuir (FT residual  $0,14 \pm 0,01$  mg.L $^{-1}$ ; NT  $49,70 \pm 0,62$  mg.L $^{-1}$ ). Isso ocorre porque, em taxas de aeração mais baixas, há uma maior decantação da biomassa, impedindo seu contato efetivo com o restante do efluente e, consequentemente, dificultando sua assimilação. Já em aerações mais elevadas, a intensificação da transferência de massa favorece a absorção e conversão dos nutrientes de maneira mais eficiente (Gu *et al.*, 2023).

Nos pontos fatoriais, a aeração para FT apresentou melhores resultados com 1,5 vvm para concentrações de 1200 mg.L $^{-1}$ , enquanto para concentrações de 3000 mg.L $^{-1}$ , a melhor aeração foi de 2,5 vvm. Acredita-se que a alta carga orgânica e a maior quantidade de biomassa fúngica podem reduzir a disponibilidade de luz para as microalgas por dificultarem a passagem de luz no reator dando o efeito de sombreamento (Cui *et al.*, 2020; Del Olmo *et al.*, 2022). No entanto, Raeesossadati *et al.* (2014) destacam que a injeção de ar no sistema melhoram a uniformidade na distribuição da biomassa, facilitando a penetração da luz para as células de microalgas. A dinâmica do fluido no reator permite que as microalgas transitem entre regiões de maior e menor iluminação, otimizando a eficiência fotossintética (Cui *et al.*, 2020; Del Olmo *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2024).

Em se tratando do tratamento de 4 dias, Tabela 11, o mesmo apresentou um comportamento similar ao anterior, entretanto ao compararmos os resultados finais é perceptível o aumento de compostos residuais em alguns casos no tratamento do dia 4 ao dia 7, principalmente nos pontos axiais. Em relação ao ponto axial -1,76 (DQO inicial 512 mg.L $^{-1}$ ; FT inicial 6,00 mg.L $^{-1}$ ; NT inicial de 31,64 mg.L $^{-1}$ ), o aumento de DQO, FT e NT, é compreensível dada a pouca disponibilidade de nutrientes no meio, podendo acarretar na lise celular, fazendo com que compostos assimilados retornem ao meio (Shivakumar *et al.*, 2024).

Para a intensidade luminosa de  $188 \mu\text{mol}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , ocorreu um retorno de fósforo ao sistema, que pode ter sido ocasionado pelo estresse celular da microalga que, embora protegida pelos *pellets* fúngicos, ainda está em condições acima de seu ponto de saturação da *Tetradesmus obliquus* de  $150 \mu\text{mol}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . A volta de fósforo também é observada em outras condições com aerações maiores, isto ocorre pela capacidade de dissolução de fósforo no meio pela alta concentração de oxigênio dissolvido (Satpati *et al.*, 2023; Leng *et al.*, 2021).

**Tabela 11-** Resultados da DQO residual, FT residual e NT residual do tratamento do soro do leite durante 4 dias.

Exp	Carga Orgânica		Luz		Taxa de aeração		DQO		FT		NT	
	(mg.L <sup>-1</sup> )		(\mu mol.m <sup>-2</sup> . s <sup>-1</sup> )		(vvm)		Residual	%	Residual	%	Residual	%
	Códificado	Real	Códificado	Real	Códificado	Real						
1	-1	1200	-1	50	-1	1,5	168,27±1,8	89,98±0,00	0,08±0,00	99,37±0,00	10,08±0,13	88,68±0,00
2	-1	1200	-1	50	+1	2,5	210,34±1,91	82,48±0,01	0,11±0,01	99,07±0,00	26,88±0,34	69,81±0,05
3	-1	1200	+1	150	-1	1,5	179,75±1,91	85,03±0,00	0,12±0,00	98,99±0,00	13,44±0,17	84,90±0,01
4	-1	1200	+1	150	+1	2,5	275,36±3,82	77,07±0,02	0,14±0,01	98,88±0,01	6,72±0,08	92,45±0,04
5	+1	3000	-1	50	-1	1,5	237,11±3,82	92,21±0,00	0,89±0,00	96,86±0,00	106,40±1,33	37,20±0,00
6	+1	3000	-1	50	+1	2,5	443,63±5,74	85,43±0,05	0,44±0,01	98,44±0,02	124,60±1,55	26,46±0,03
7	+1	3000	+1	150	-1	1,5	290,65±7,65	90,45±0,00	0,73±0,00	97,43±0,00	65,80±0,82	61,17±0,00
8	+1	3000	+1	150	+1	2,5	428,33±7,65	85,93±0,04	0,21±0,00	99,25±0,00	46,20±0,60	72,73±0,00
9	-1,76	512	0	100	0	2	58,13±0,00	88,31±0,02	0,07±0,02	98,86±0,00	6,72±0,08	79,29±0,03
10	+1,76	3687	0	100	0	2	902,55±15,3	77,13±0,03	13,91±0,01	74,07±0,00	135,80±1,69	29,87±0,05
11	0	2100	-1,76	12	0	2	348,02±1,53	82,09±0,00	5,25±0,28	78,11±0,05	47,60±0,59	60,77±0,01
12	0	2100	+1,76	188	0	2	260,06±6,88	86,61±0,01	0,17±0,07	99,30±0,00	57,82±0,72	52,35±0,04
13	0	2100	0	100	-1,76	1,12	558,36±3,82	72,56±0,00	2,49±0,01	89,64±0,00	56,14±0,7	53,73±0,00
14	0	2100	0	100	+1,76	3	485,70±5,74	76,13±0,03	0,14±0,01	99,42±0,00	49,70±0,62	59,04±0,01
15 (R)	0	2100	0	100	0	2	386,26±1,91	81,02±0,05	0,35±0,01	98,27±0,00	47,18±0,58	61,12±0,00
16 (R)	0	2100	0	100	0	2	383,48±1,53	83,61±0,00	0,32±0,00	98,68±0,00	47,60±0,59	60,77±0,00

Fonte: Autora (2025)

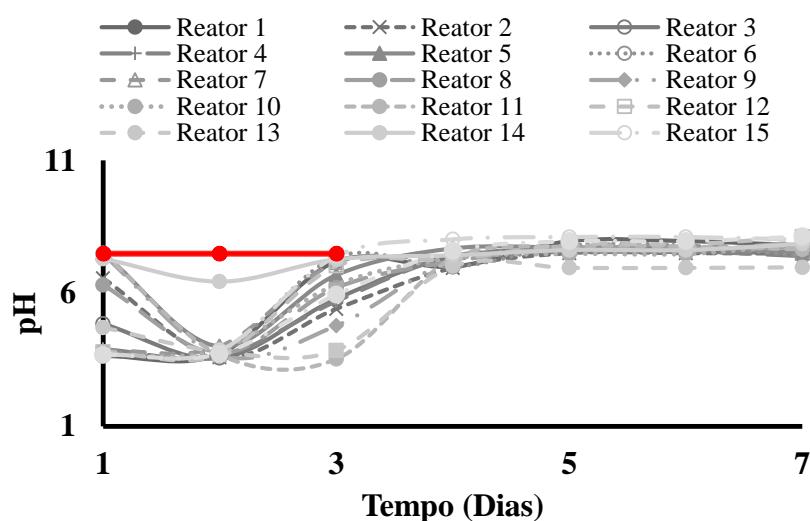
Na aeração de 1,12 vvm, ocorre um aumento de DQO residual, isto pode ocorrer pela falta de oxigenação necessária para a respiração fúngica, enquanto na aeração de 3 vvm, os *pellets* de microalga-fungos são severamente atingidos, explicando o retorno de DQO e fósforo ao sistema (Chu *et al.*, 2021; De Andrade *et al.*, 2022).

### 5.3 Influência do pH no tratamento biológico do soro do leite

Durante o cultivo consorciado de microalgas e fungos filamentosos, o pH desempenha um papel fundamental, enquanto as microalgas necessitam de um ambiente alcalino para seu desenvolvimento, os fungos filamentosos liberam ácidos orgânicos, acidificando o meio. No entanto, as microalgas utilizam parte destes ácidos em seu metabolismo, enquanto os compostos ácidos restantes garantem que o meio não fique alcalino ao decorrer do crescimento da microalga, resultando na neutralização do pH (Chilakamarry *et al.*, 2022; Chowdury; Nahar; Deb, 2020; Chu *et al.*, 2021).

A Figura 11, mostra que para todas as condições estudadas, houve inicialmente um decaimento do pH devido ao crescimento fúngico, que ocorre mais rapidamente, pelo fato deste ser nativo ao soro do leite, tendo adaptação natural a temperatura, pH e composição físico-química do meio de cultivo, assim, para auxiliar o desenvolvimento das microalgas durante este período, o pH foi ajustado para 7,5 até o terceiro dia de tratamento (Vaishnavi, Thamaraiselvi, Vasanthi 2019; Taluskar *et al.*, 2020; Ralajaksni *et al.*, 2023).

**Figura 11** - Valores do pH para os 16 reatores em diferentes condições ambientais para o tratamento do soro do leite



Fonte: Autora (2025).

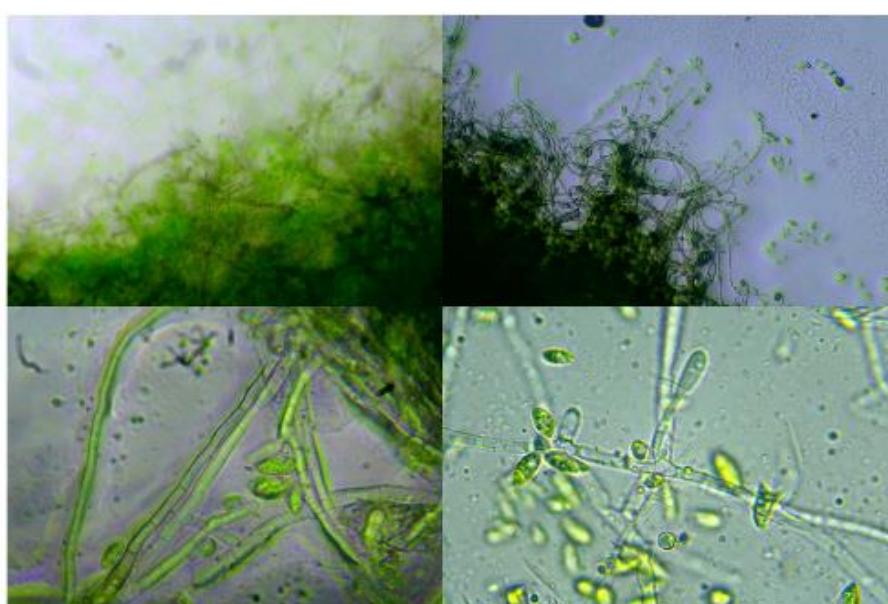
O pH atinge a estabilidade apenas a partir do quarto dia de tratamento, indicando melhores condições para as microalgas e o alcance dos padrões de lançamento de efluente em corpos d'água estabelecidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) na resolução nº 430 de 2011, que determina o parâmetro de pH entre 5 e 9.

#### 5.4 Influência da taxa de aeração na formação e pellets

A formação de *pellets* é de grande importância para o tratamento de efluentes por proporcionar a recuperação da biomassa microbiana por meio da biofloculação, uma maneira econômica e eficaz que possibilita o reuso da biomassa, rica em compostos importantes para a indústria, como lipídeos e carboidratos. A oxigenação necessária para o desenvolvimento de *pellets* também é um fator importante no sistema de tratamento, visto que os fungos filamentosos realizam respiração para seu crescimento e atividade metabólica (Satpati *et al.*, 2023).

A agitação fornecida pela taxa de aeração é um influenciador crucial para a formação de *pellets*, visto que para aerações muito baixas pode não ocorrer a adesão das hifas nas células fúngicas, enquanto para aerações muito altas pode acontecer a quebra ou não formação de *pellets* pela alta tensão de cisalhamento, em ambos os casos a não formação de pellets fúngicos faz com que não haja a captura das microalgas pelos mesmos (Wu *et al.*, 2023; Satpati *et al.*, 2023; Chu *et al.*, 2021). A adesão das microalgas as hifas fúngicas dos *pellets* obtidos neste estudo são mostrados na Figura 12.

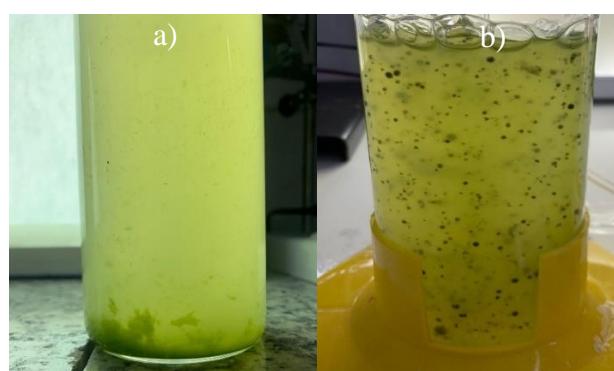
**Figura 12** - Imagens no microscópio da aderencia de células de microalgas pelas hifas fúngicas.



Fonte: Autora (2025).

Para o reator coluna de bolhas em escala laboratorial foi percebido que aerações de 1,12 vvm não ocorreu a formação de pellets por não ofertar uma agitação suficiente para a aglomeração celular, ocasionando decantação de uma grande quantidade de biomassa (Figura 13a), enquanto para aerações de 3 vvm ocorreu a quebra de *pellets* ocasionada pela alta tensão de cisalhamento no meio (Figura 14e), como discutido nos artigos de Maiorano *et al.*, (2020) e Buffo *et al.*, (2020).

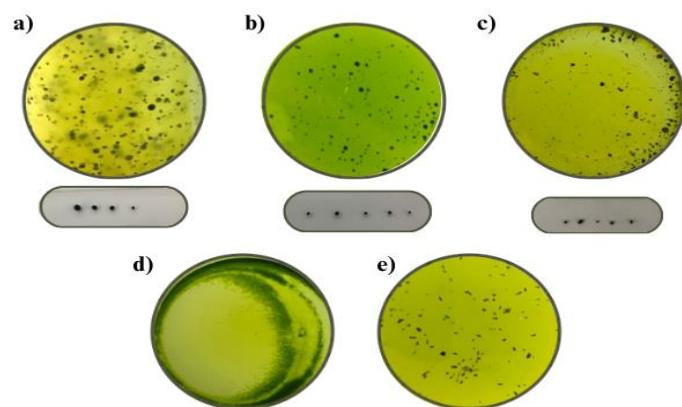
**Figura 13 –** a) Biomassa decantada sem a formação de pellets no reator coluna de bolhas com aeração de 1,12 vvm b) Biomassa pelletizada e não decantada no reator coluna de bolhas com aeração de 1,5 vvm.



Fonte: Autora (2025).

Aerações entre 1,5 (Figura 14a) e 2 vvm (Figura 14b) foram as mais eficazes para a formação de pellets esféricos e concisos com diâmetros variando em média entre 0,1 e 0,2 mm. Os resultados condizem com os estudos de Buffo *et al.*, (2022) e Namboolodiri *et al.*, (2022) para aerações de 1,4 e 2 vvm. Para aerações de 2,5 vvm ocorreu a formação de pellets um pouco mais robustos e quebradiços como previstos em Maldonado *et al.*, (2024) e El-moslamy *et al.* (2023) (Figura 14c).

**Figura 14 -** Imagens de *pellets* fúngicos. a) reator de aeração 1,5 vvm b) reator de aeração 2 vvm c) reator de aeração 2,5 vvm d) reator de aeração 1,12 vvm e) reator de aeração 3 vvm.



Fonte: Autora (2025).

## 5.5 Análise estatística e otimização pelo método de superfícies de resposta

Os dados obtidos nos experimentos seguindo o planejamento composto central para o tratamento de 7 dias propuseram um modelo polinomial apresentado nas Equações 6, 7 e 8 para DQO, FT e NT, respectivamente, onde CO representa a carga orgânica, enquanto Luz se refere a intensidade luminosa e AE equivale a aeração.

$$DQO \text{ residual modelo } 1 = 891,96 + 0,18 * CO + 3,39 * Luz - 0,02 * Luz^2 - 1128 * AE + 295,56 * AE^2 - 0,01 * CO * AE + 0,01 * Luz * AE \quad \text{Eq (6)}$$

$$FT \text{ residual modelo } 1 = 0,003 * CO - 0,0355 * Luz + 0,00016 * Luz^2 + 0,72 * AE + 0,512 * AE^2 - 0,00166 * CO * AE - 0,00162 * LUZ * AE \quad \text{Eq (7)}$$

$$NT \text{ residual modelo } 1 = 26,39 + 0,0021 * CO - 0,2024 * Luz - 0,0028 * LUZ^2 - 42,14 * AE + 13,32 * AE^2 - 0,0001 * CO * LUZ - 0,0082 * CO * AE - 0,2716 * LUZ * AE \quad \text{Eq (8)}$$

A equação da DQO residual do modelo 1 sugere que a aeração tem o maior impacto na remoção da DQO, seu coeficiente negativo do efeito linear (-1128) indica que uma maior redução de DQO para aerações baixas ou médias, enquanto o termo quadrático (+295,56) indicou que aerações muito altas podem diminuir este efeito.

Da mesma maneira, as variáveis de interação mostraram que a aeração pode ser levemente influenciada pela carga orgânica e pela intensidade luminosa. Ademais, o termo da luz linear (+3,39) indica que quanto maior a intensidade luminosa, maior será a DQO residual, entretanto o efeito quadrático (-0,02) indica que em certo ponto a intensidade de luz alta pode reduzir a DQO residual. A carga orgânica linear (+0,18) demonstrou que o seu aumento causa uma maior DQO residual. Diante disso, esta equação demonstrou condizer com os dados da literatura e os discutidos na seção anterior.

Se tratando da equação de FT residual do modelo 1, os coeficientes da aeração linear (+0,72) e quadrático (+0,512), indicaram que o aumento da aeração pode causar prejuízo a remoção de FT. Além disso, a carga orgânica linear (+0,003) e a intensidade luminosa quadrática (+0,00016) demonstraram que o seu aumento diminui a eficiência da remoção de FT, enquanto a interação da aeração com a carga orgânica (-0,000166) e a intensidade luminosa

(-0,000162) mostrou beneficiar o processo, entretanto, embora sejam variáveis significativas, seu coeficiente de regressão apresenta valores muito inferiores quando comparado às outras variáveis, o que faz com que sua influência seja menor em relação às demais.

Simultaneamente, o coeficiente linear da luz (-0,035) indica que o aumento da intensidade luminosa é benéfico para a remoção de fósforo, o mesmo ocorre para NT que tem no seu termo linear (-0,2024) de intensidade luminosa. Os termos da aeração tem significância, indicando que o aumento da aeração pode melhorar o tratamento (linear -42,14), entretanto o termo quadrático positivo indica que há um ponto em que este efeito pode ser revertido (quadrático +13,32), comportamento similar a DQO. Os dados obtidos foram de acordo aos discutidos na seção anterior. A análise de variância (ANOVA) mostrado na Tabela 12 expõe a significância das variáveis anteriormente citadas no nível de confiança de 90% ( $p<0,1$ ), entretanto o efeito da significância das variáveis pode mudar a depender do nível de confiança escolhido (Dos Santos *et al.*, 2024; Klein *et al.*, 2025; Bucialle *et al.*, 2021).

Em relação a predição dos modelos matemáticos, a equação 1 para DQO apresentou um  $R^2$  de 0,83 e um R adj de 0,60, o modelo para FT apresentou 0,88 e 0,71 para  $R^2$  e R adj, respectivamente, por fim o  $R^2$  e R adj para NT foi de, respectivos, 0,90 e 0,76. Assim, valores de  $R^2$  e R adj entre 0,8 e 1 são considerados bons ajustes do modelo. Valores inferiores a 0,75 indicam que pode haver dificuldades de predição do modelo para predizer o modelo (Mooralitharan *et al.*, 2021).

Desse modo, os polinômios obtidos para FT e NT do modelo 1 podem ser considerados satisfatórios, o modelo de DQO apresenta confiabilidade de 83%, porém seu R adj sugere que o modelo pode ser melhorado, possivelmente avaliando outros fatores ou interações.

O gráfico dos valores previstos calculados a partir dos modelos matemáticos para DQO residual, FT residual e NT residual *versus* os valores reais obtidos no experimento sugerem que há uma tendência e confiabilidade entre estes.

Finalizadas as análises para verificar a confiabilidade dos modelos matemáticos, as superfícies de resposta para DQO residual (Figura 16), FT residual (Figura 17) e NT residual (Figura 18) foram obtidas.

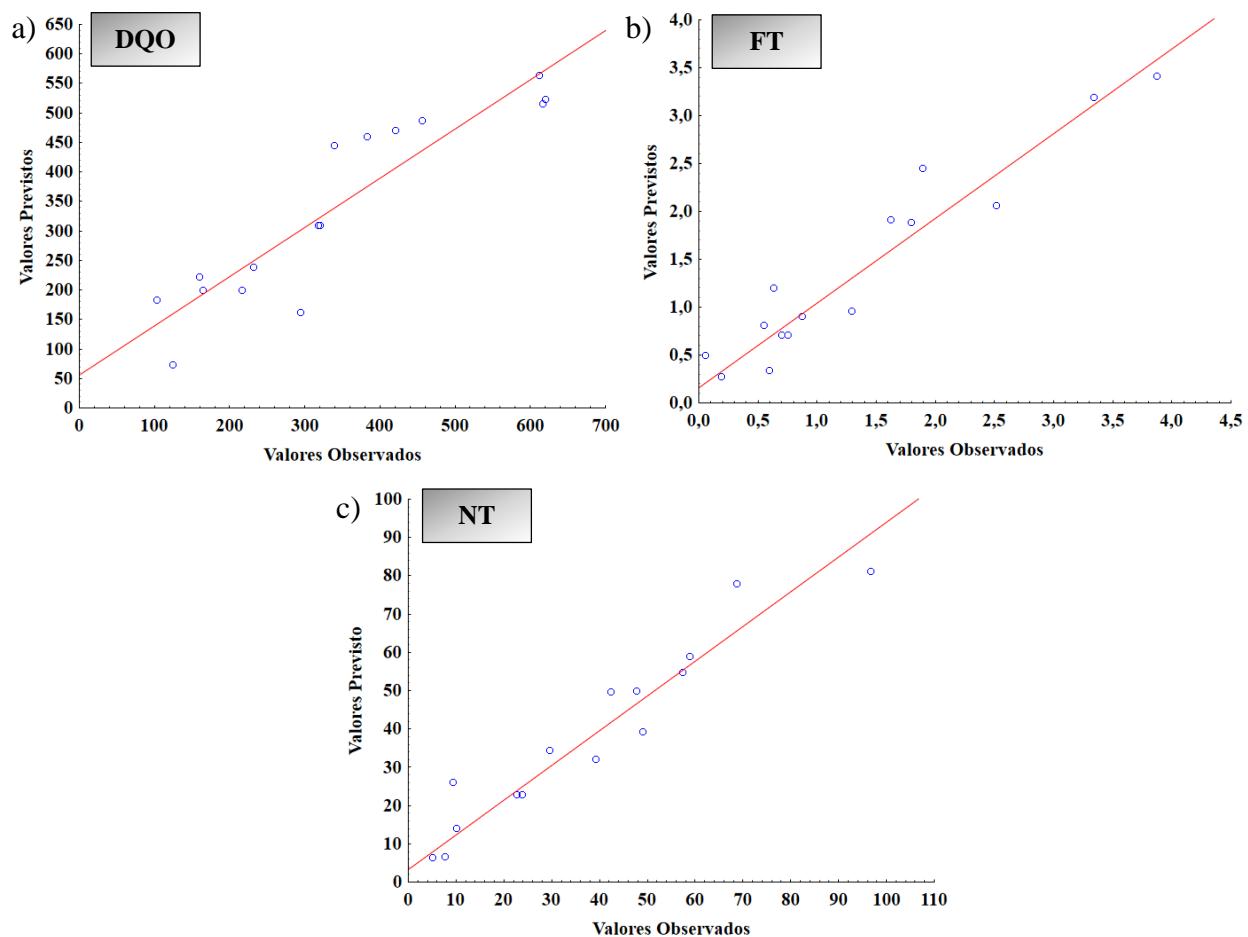
As superfícies de respostas foram analisadas com o intuito de estudar regiões de confiança com maior probabilidade de localizar o ponto ótimo, que seria baseado na diretiva europeia com DQO residual para descarte abaixo de  $125 \text{ mg.L}^{-1}$ , FT residual de descarte abaixo de  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  e NT residual de  $15 \text{ mg.L}^{-1}$  para o seu devido descarte (Diretiva 91/271/CE).

**Tabela 12** - ANOVA para os modelos matemáticos de DQO, FT e NT residuais com 7 dias de tratamento.

DQO R <sup>2</sup> =0,83 R adj=0,6	SQ	GL	MS	Valor F	Valor P
CO	231588,4	1	231588,4	87967,73	0,0021 Signigicante
CO <sup>2</sup>	160,5	1	160,5	60,97	0,0811 Signigicante
Luz	1585,4	1	1585,4	602,19	0,0259 Signigicante
Luz <sup>2</sup>	18009,2	1	18009,2	6840,70	0,0077 Signigicante
AE	2683,2	1	2683,2	1019,19	0,0199 Signigicante
AE <sup>2</sup>	56990,8	1	56990,8	21647,67	0,0043 Signigicante
CO*Luz	58,2	1	58,2	22,12	0,1334 Não significante
CO*AE	261,3	1	261,3	99,25	0,0637 Significante
AE*Luz	0,2	1	0,2	0,09	0,8161 Não significante
Falta de ajuste	74865,4	5	14973,1	5687,45	0,0101 Significante
Erro puro	2,6	1	2,6		
FT R <sup>2</sup> =0,88; RAdj=0,71	SQ	GL	MS	Valor F	Valor P
CO	7,19	1	7,19	5754,76	0,0084 Significante
CO <sup>2</sup>	0,25	1	0,25	200,59	0,0449 Signicante
Luz	0,02	1	0,02	18,56	0,1452 Não significante
Luz <sup>2</sup>	1,75	1	1,75	1400,27	0,0170 Significante
AE	2,72	1	2,73	2182,14	0,0136 Significante
AE <sup>2</sup>	0,17	1	0,17	136,99	0,0543 Significante
CO*Luz	0,09	1	0,09	79,58	0,0711 Significante
CO*AE	4,47	1	4,47	3579,35	0,0106 Significante
AE*Luz	0,01	1	0,01	10,53	0,1903 Não significante
Falta de ajuste	2,12	5	0,42	340,70	0,0411 Significante
Erro puro	0,0012	1	0,0012		
NT R <sup>2</sup> =0,90; R Adj=0,76	SQ	GL	MS	Valor F	Valor P
CO	8184,74	1	8184,73	13049,64	0,0056 Significante
CO <sup>2</sup>	172,41	1	172,41	274,89	0,0384 Significante
Luz	123,48	1	123,48	196,88	0,0453 Significante
Luz <sup>2</sup>	504,65	1	504,65	804,60	0,0224 Significante
AE	6,06	1	6,06	9,66	0,1982 Não significante
AE <sup>2</sup>	115,79	1	115,79	184,62	0,0468 Significante
CO*Luz	276,60	1	276,59	441,00	0,0303 Significante
CO*AE	110,11	1	110,11	175,56	0,0480 Significante
AE*Luz	368,83	1	368,83	588,06	0,0262 Significante
Falta de ajuste	989,79	5	197,96	315,62	0,0427 Significante
Erro puro	0,63	1	0,63		

Fonte: Autora (2025).

**Figura 15** - Gráfico para o modelo 1 de a) DQO, b) FT e c) NT dos valores observados vs previstos.

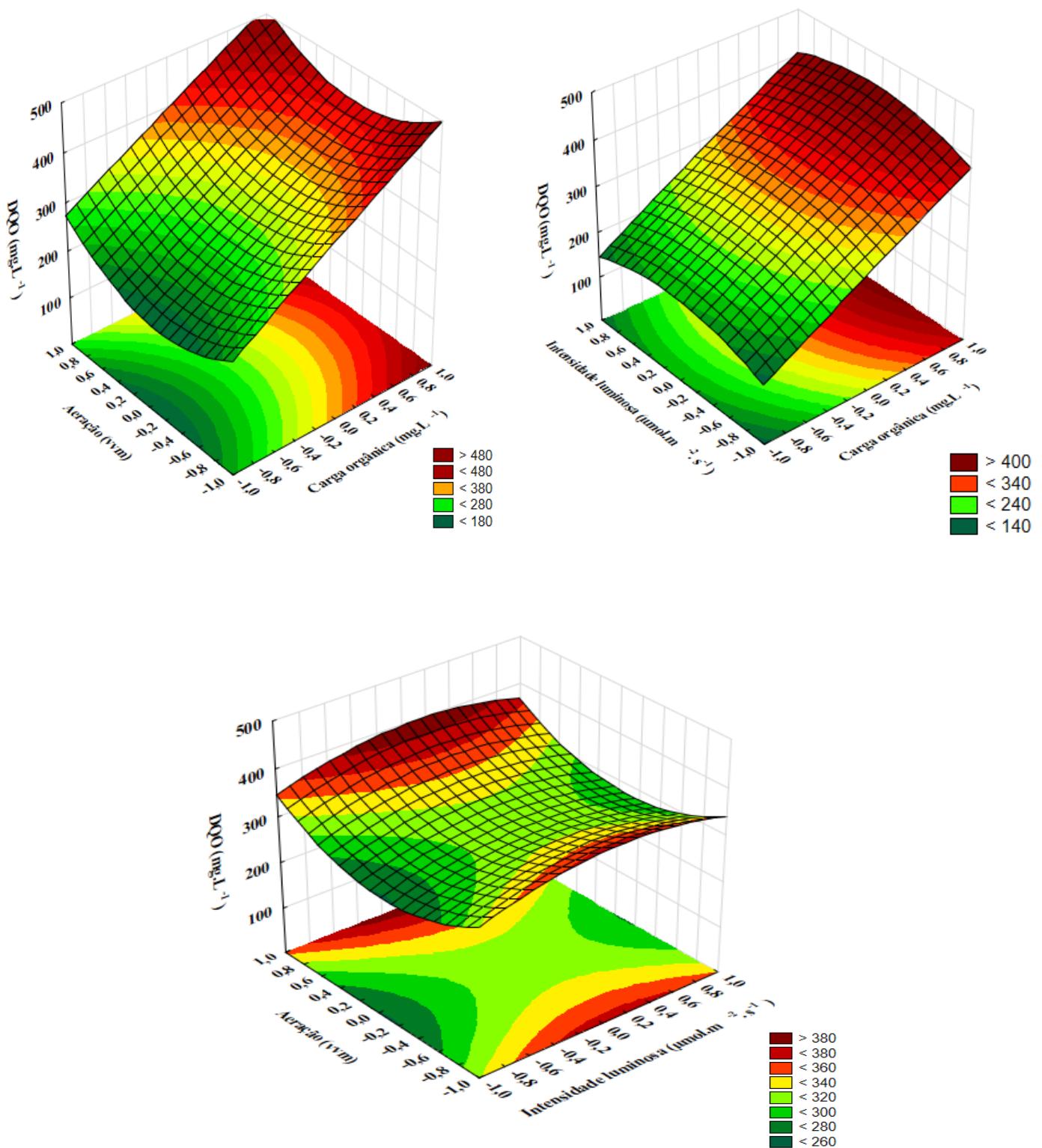


Fonte: Autora (2025).

Analisando as superfícies, a região de ponto ótimo é representada de verde escuro, com valores de carga orgânica abaixo de  $1200 \text{ mg.L}^{-1}$  e uma aeração variando entre 1,6 e 2,2 vvm. A DQO residual apresentou melhores resultados para baixas intensidades luminosas, em torno de  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , enquanto FT e NT tenderam a regiões próximas a  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

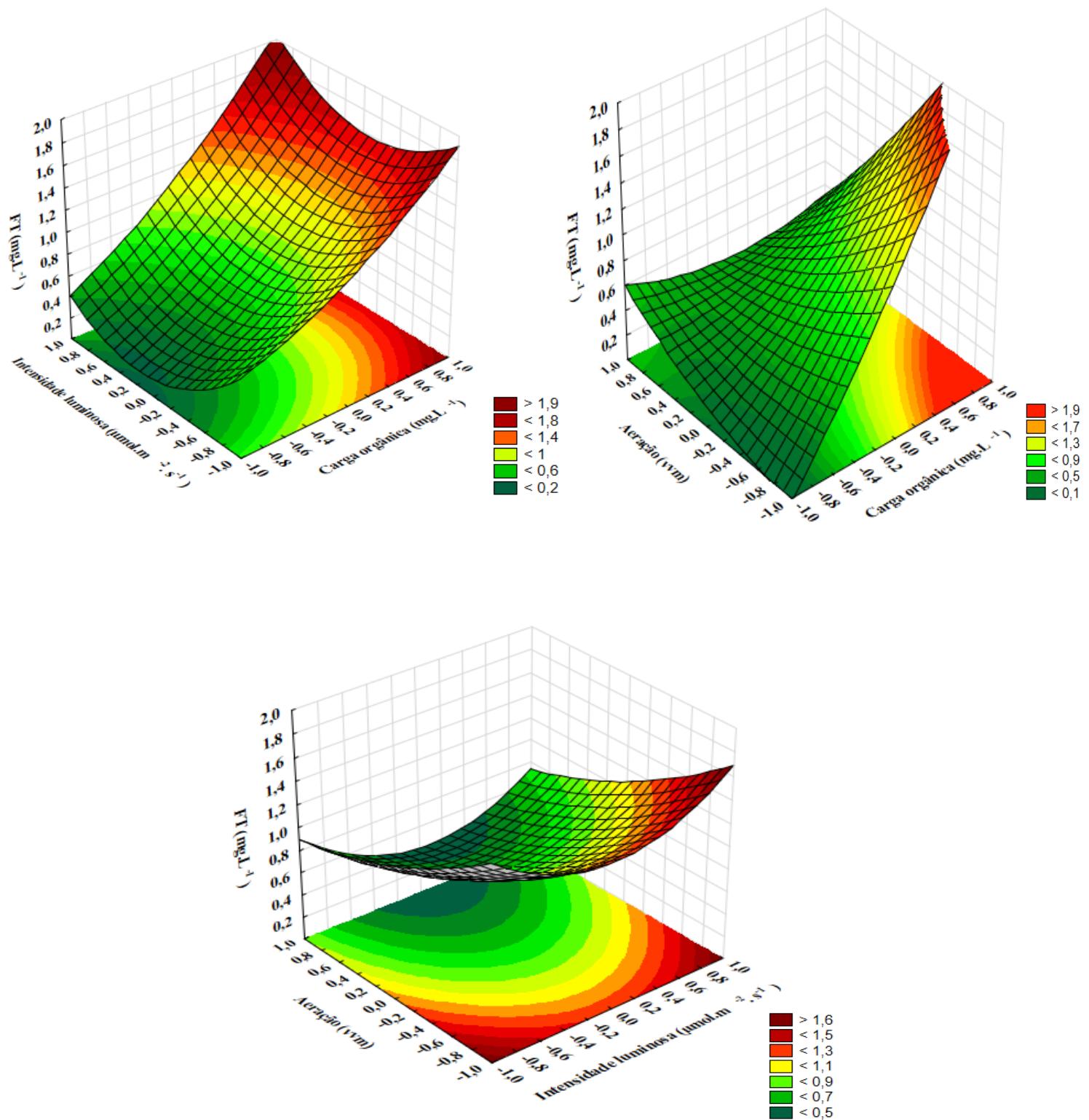
Em seguida, o algoritmo de otimização *trust-constr* disponível na biblioteca do python (Scipy) foi utilizado para minimizar a função objetivo, pois este método pode ser utilizado para otimizar funções não lineares com restrições (Conn; Gould; Toint, 2000). Neste caso, por ser um modelo matemático de segundo grau, temos uma função não linear que precisa atingir parâmetros da diretiva europeia para o seu descarte, sendo assim estas condições de descarte são restrições impostas a função no algoritmo de otimização.

**Figura 16** - Superfícies de resposta obtidas para DQO residual do Modelo 1



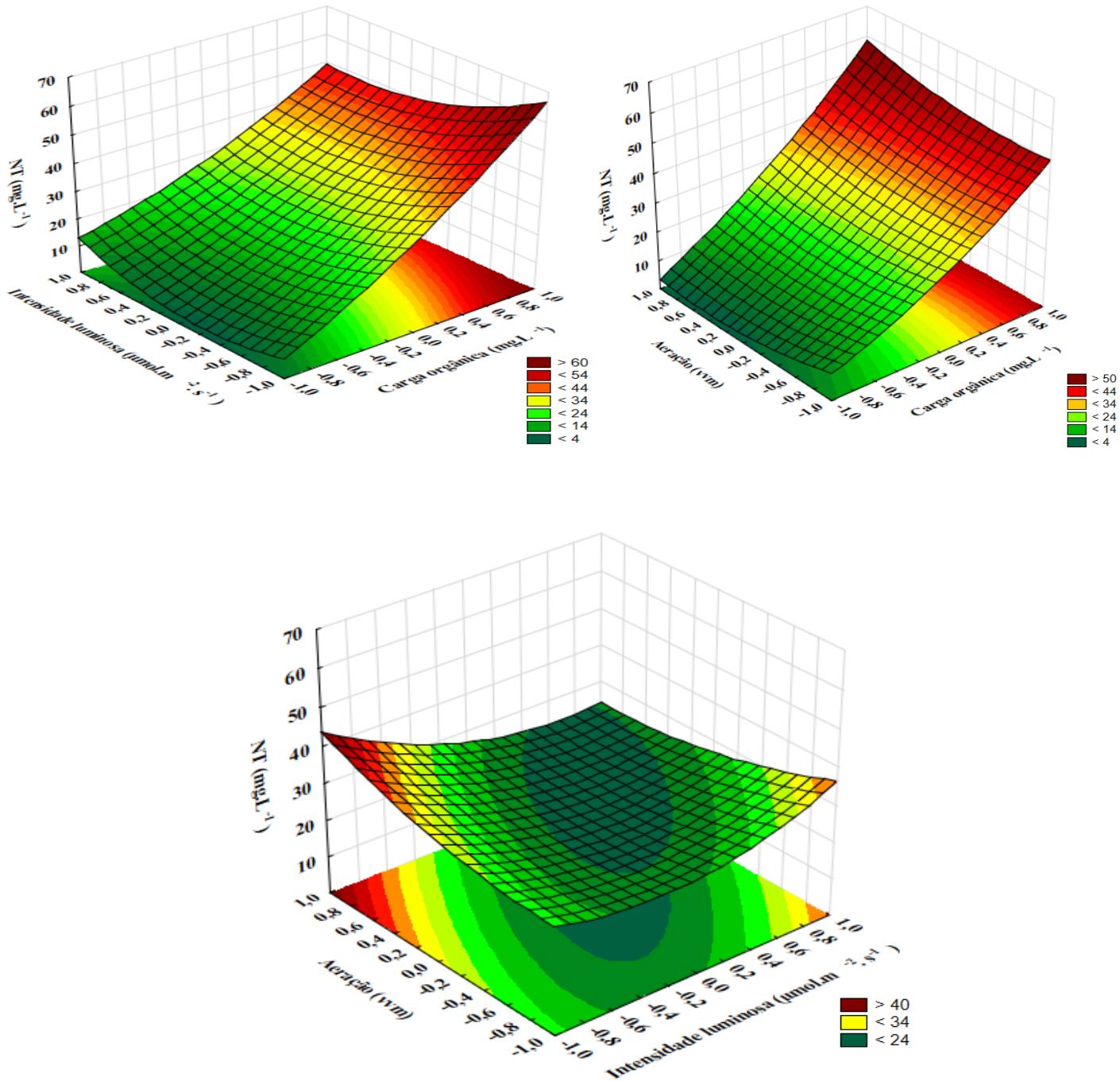
Fonte: Autora (2025)

**Figura 17** - Superfícies de resposta obtidas para FT residual do Modelo 1



Fonte: Autora (2025)

**Figura 18** - Superfícies de resposta obtidas para NT residual do Modelo 1



Fonte: Autora (2025)

Além disso, também são usado como restrições valores negativos para DQO, FT e NT residual, do mesmo modo para as variáveis de entrada CO, Luz e AE (Nocedal; Jorge; Stephen, 2006). Como resultado o ponto ótimo encontrado foi de  $1200 \text{ mg.L}^{-1}$  para a carga orgânica com intensidade luminosa de aproximadamente 130 e aeração de aproximadamente 1,8 vvm,

obtendo uma DQO residual esperada de  $117 \text{ mg.L}^{-1}$ , FT residual esperado de  $0,7 \text{ mg.L}^{-1}$  e NT residual esperado de  $8,9 \text{ mg.L}^{-1}$ , atendendo a legislação considerada.

Do mesmo modo, foram feitas as análises para o tratamento de 4 dias, os resultados são mostrados na Tabela 13. Os modelos matemáticos obtidos para a DQO, FT e NT residuais são mostrados nas equações 9, 10 e 11.

$$DQO \text{ residual modelo } 2 = 261,23 - 0,013 * CO + 5,325 * Luz - 0,020 * Luz^2 - 366,686 * AE + 77,107 * AE^2 + 0,081 * CO * AE - 0,497 * Luz * AE \quad \text{Eq (9)}$$

$$FT \text{ residual modelo } 2 = 3,3863 - 0,0056 * CO - 0,02849 * Luz + 0,0001 * Luz^2 + 3,28787 * AE - 0,84060 * AE^2 - 0,0003 * CO * AE - 0,00045 * Luz * AE \quad \text{Eq (10)}$$

$$NT \text{ residual modelo } 2 = -112,907 + 0,042 * CO + 1,019 * Luz + 30,886 * AE + 1,523 * AE^2 - 0,003 * CO * AE - 0,307 * Luz * AE \quad \text{Eq (11)}$$

Os  $R^2$  e R adj para DQO residual e FT residual ficaram abaixo da faixa de confiabilidade, com valores de  $R^2$  de 0,64 e 0,5 para DQO e FT residual, respectivamente e um R adj de 0,09 e 0 para DQO e FT residual, respectivamente. A DQO residual demonstrou um alto problema no ajuste, isto pode ser atribuído tanto aos outliers dos dados, como falta de ajuste da equação, entretanto seus valores previstos pelos valores observados ainda demonstraram uma tendência (Figura 19). A remoção de FT está diretamente ligada ao pH do sistema, pois este precipita em ambientes alcalinos (Satpati et al., 2023; Leng et al., 2021). Assim, os dados coletados para o tratamento do dia 4 podem ter um alto ruído, visto que, como comentado na seção 5.4, o pH se estabilizou apenas após o quarto dia de tratamento, indicando instabilidade do sistema nos dias anteriores.

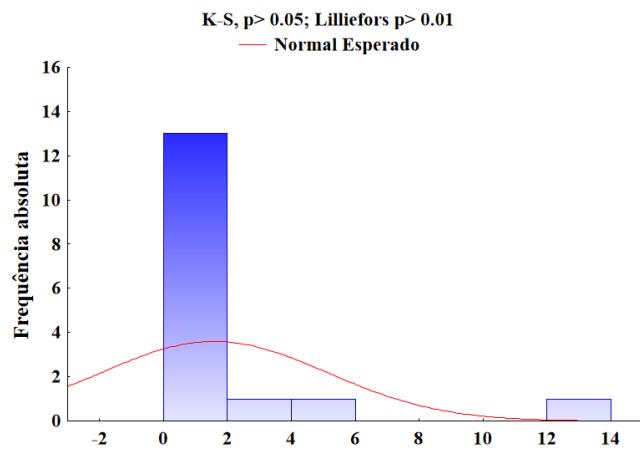
O ruído de dados para FT residual pode ser melhor observado ao analisar a normalidade dos dados obtidos, como mostrado na Figura 19, onde é possível observar que os valores para FT são altamente assimétricos com testes de Kolmogorov-Smirnov (K-S) e Lilliefors apresentando valores de  $p < 0,2$  o que significa que os dados não seguem uma distribuição normal (Siegel, 2016).

**Tabela 13** – ANOVA para DQO, FT e NT residual para o tratamento do soro do leite de 4 dias

<b>DQO R<sup>2</sup> =0,64 adj=0,09</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>MS</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>	
CO	303724,6	1	303724,6	78599,61	0,0022	Signigicante
CO <sup>2</sup>	360,6	1	360,6	93,32	0,0656	Signigicante
Luz	282,3	1	282,3	73,05	0,0741	Signigicante
Luz <sup>2</sup>	26927,9	1	26927,9	6968,57	0,0076	Signigicante
AE	13479,3	1	13479,3	3488,25	0,0107	Signigicante
AE <sup>2</sup>	3878,7	1	3878,7	1003,75	0,0200	Signigicante
CO*Luz	468,0	1	468,0	121,12	0,0576	Significante
CO*AE	10559,9	1	10559,9	2732,74	0,0122	Significante
AE*Luz	1235,9	1	1235,9	319,83	0,0355	Significante
Falta de ajuste	217251,3	5	43450,3	11244,31	0,0071	Significante
Erro puro	3,9	1	3,9			
<b>FT R<sup>2</sup>=0,5; R<sub>Adj</sub>=0</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>MS</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>	
CO	48,44	1	48,44	87491,13	0,0021	Signigicante
CO <sup>2</sup>	27,20	1	27,20	49126,44	0,0028	Signigicante
Luz	6,07	1	6,06	10954,58	0,0061	Signigicante
Luz <sup>2</sup>	0,59	1	0,59	1065,88	0,0194	Signigicante
AE	1,79	1	1,79	3246,00	0,0112	Signigicante
AE <sup>2</sup>	0,46	1	0,46	832,53	0,0220	Signigicante
CO*Luz	0,03	1	0,03	48,08	0,0912	Significante
CO*AE	0,1284	1	0,13	231,89	0,0417	Significante
AE*Luz	0,0010	1	0,00	1,85	0,4037	Significante
Falta de ajuste	92,4890	5	18,49	33406,85	0,0041	Significante
Erro puro	0,0006	1	0,0005			
<b>NT R<sup>2</sup>=0,93;R<sub>Adj</sub>=0,81</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>MS</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>	
CO	18544,18	1	18544,18	210251,5	0,0014	Significante
CO <sup>2</sup>	411,12	1	411,12	4661,2	0,0093	Significante
Luz	975,28	1	975,28	11057,6	0,0060	Significante
Luz <sup>2</sup>	1,02	1	1,02	11,6	0,1816	Não significante
AE	0,50	1	0,50	5,7	0,2521	Não significante
AE <sup>2</sup>	1,51	1	1,51	17,2	0,1508	Não significante
CO*Luz	1305,61	1	1305,61	14802,8	0,0052	Significante
CO*AE	16,47	1	16,47	186,8	0,0464	Significante
AE*Luz	470,02	1	470,02	5329,0	0,0087	Significante
Falta de ajuste	1699,45	5	339,89	3853,6	0,0122	Significante
Erro puro	0,09	1	0,09			

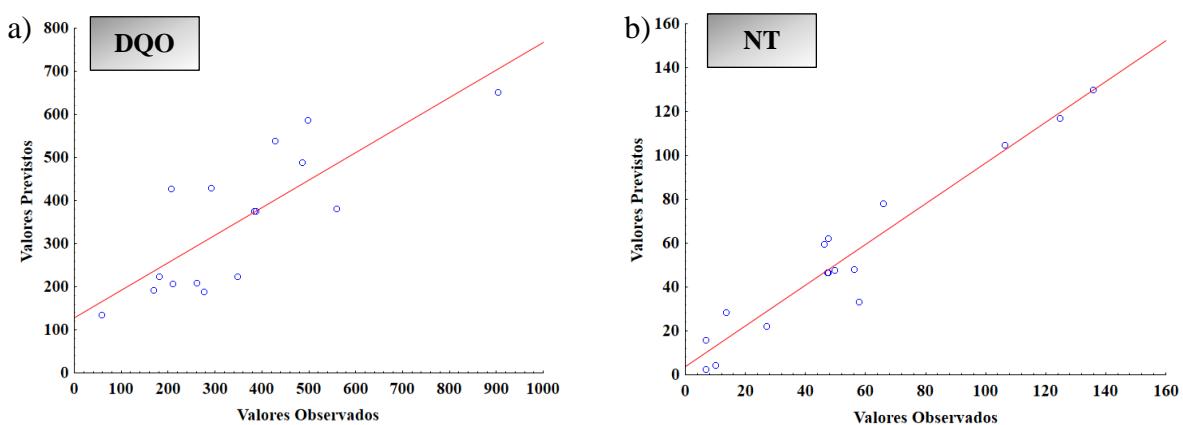
Fonte: Autora (2025).

**Figura 19** - Gráfico de normalidade para os dados de FT residual com 4 dias de tratamento.



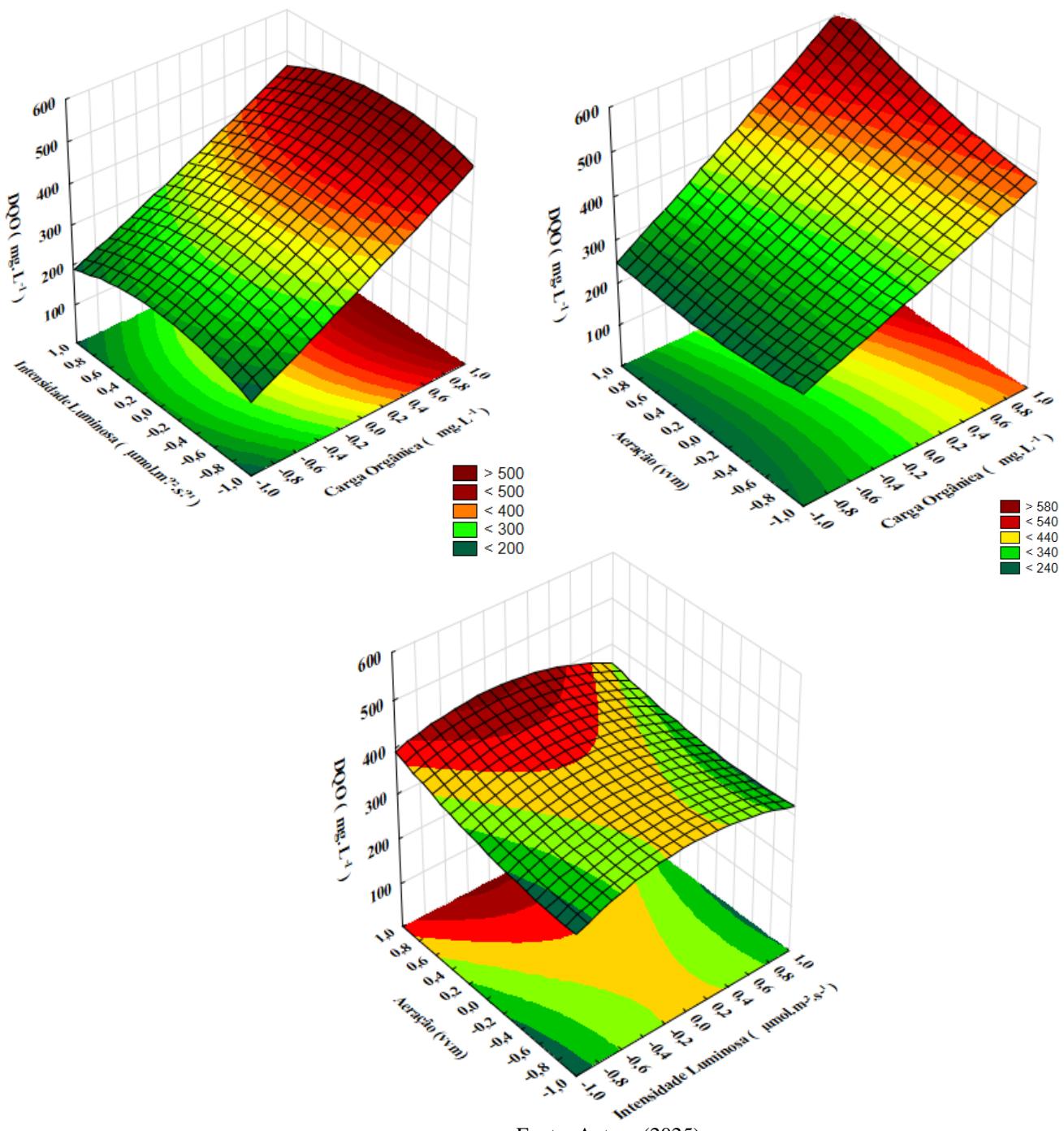
O  $R^2$  e o  $R_{adj}$  para a equação de NT residual de 4 dias de tratamento foram de 0,93 e 0,81, respectivamente. Estes resultados indicam que há 93% de confiabilidade para esta equação. Os dados de NT apresentaram melhor desenvolvimento, provavelmente por ser consumido tanto pelo fungo filamentoso, quanto pela microalga, não apresentando a instabilidade sentida pelo composto de FT. Além disso, o modelo matemático conseguiu prever com eficácia os seus valores, como mostrado na Figura 20. Assim, tendo DQO residual e NT residual demonstrado confiança e estando ciente que FT residual não será bem prevista, foi realizado a análise das superfícies de resposta (Figura 21 e Figura 22) e otimização do tratamento de 4 dias utilizando o *Trust-constr* obtendo como pontos ótimos  $1200 \text{ mg.L}^{-1}$  com intensidade luminosa de 50 e aeração de 1,8 vvm, atingindo valores mínimos de DQO residual de  $173 \text{ mg.L}^{-1}$  e NT residual de  $13,65 \text{ mg. L}^{-1}$ .

**Figura 20** - Valores previstos vs Valores Observados para a) DQO residual do modelo 2 b) NT residual para o modelo 2



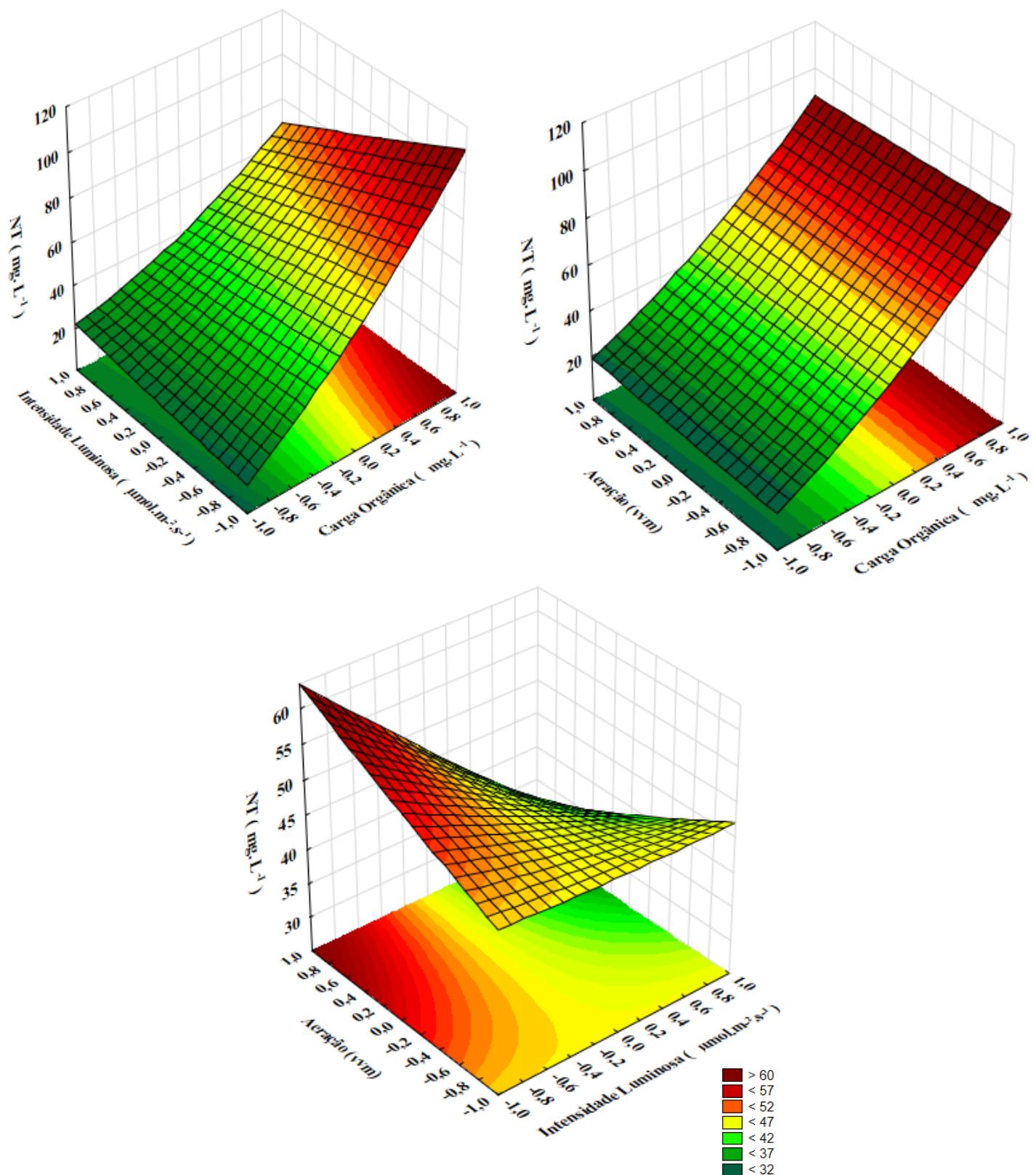
Assim, tendo DQO residual e NT residual demonstrado confiança e estando ciente que FT residual não será bem prevista, foi realizado a análise das superfícies de resposta (Figura 21 e Figura 22) e otimização do tratamento de 4 dias utilizando o *Trust-constr* obtendo como pontos ótimos 1200 mg.L<sup>-1</sup> com intensidade luminosa de 50 e aeração de 1,8 vvm, atingindo valores mínimos de DQO residual de 173 mg.L<sup>-1</sup> e NT residual de 13,65 mg. L<sup>-1</sup>.

**Figura 21-** Superfícies de resposta da DQO residual para o Modelo 2



Fonte: Autora (2025)

**Figura 22** - Superfícies de resposta da NT residual para o Modelo 2



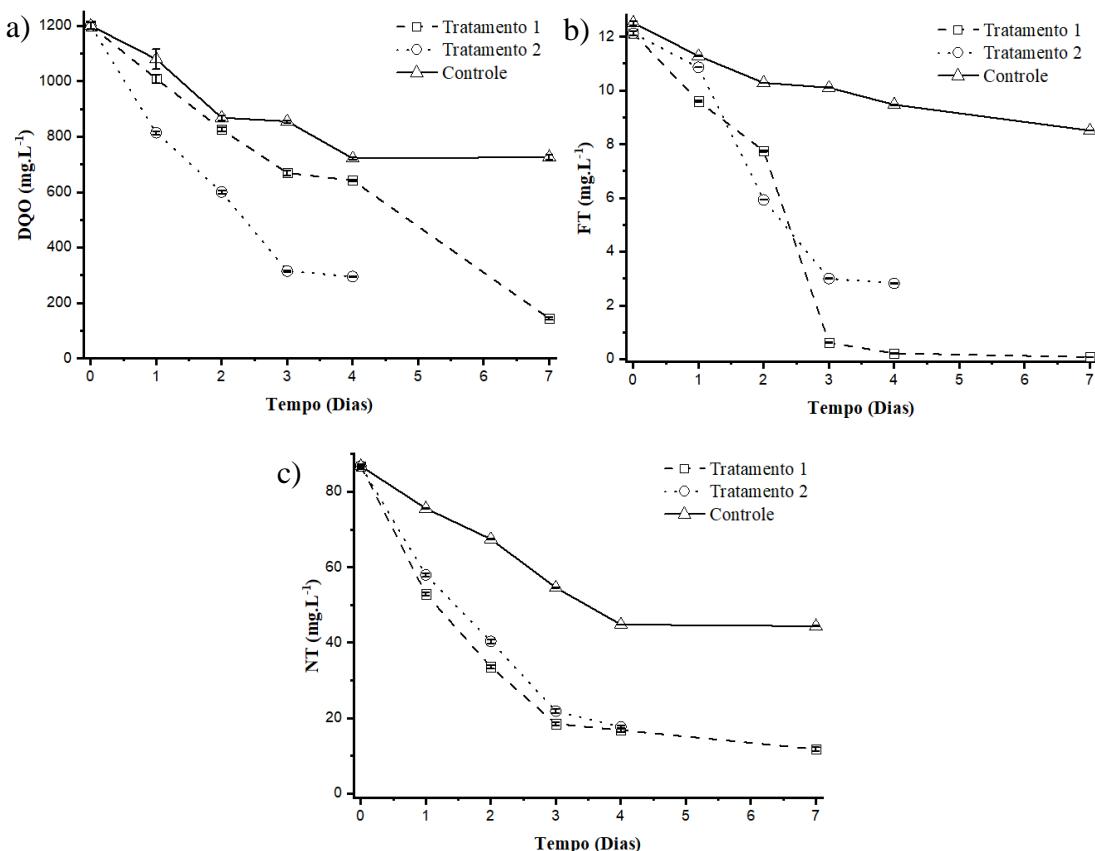
Fonte: Autora (2025)

## **5.6 Validação do modelo matemático**

Com a determinação do modelo matemático e a partir dele, dos pontos ótimos para o tratamento de 4 e de 7 dias, experimentos foram realizados para promover a validação desses pontos. Desta forma, o tratamento 1 contou com intensidade luminosa de  $130 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e aeração de  $1,8 \text{ vvm}$  para uma concentração inicial de DQO, FT e NT de  $1200, 12$  e  $87 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivamente, em um tratamento de 7 dias. Da mesma forma, sob as mesmas condições de concentração de carga orgânica e aeração, o tratamento 2 foi realizado por um período de detenção hidráulica de 4 dias, sob intensidade luminosa de  $50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

De acordo com a Figura 23, observa-se uma tendência de decaimento dos poluentes ao longo dos dias de tratamento, conforme indicado pelas curvas de DQO, FT e NT para os tratamentos 1 e 2. Ademais, ambos os sistemas tiveram valores residuais menores que o controle. É possível perceber que temos para o tratamento 1 uma remoção para DQO de 88,03% com um residual de  $143,8 \pm 5 \text{ mg.L}^{-1}$ , uma remoção de 99,37% para FT com residual de  $0,08 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$  e uma remoção de 86,45% e residual de  $11,76 \pm 5 \text{ mg.L}^{-1}$  para NT no tratamento 1, e para o tratamento 2 uma remoção de DQO de 75,41% com residual de  $295,24 \pm 5 \text{ mg.L}^{-1}$ , 76,77% de remoção com residual de  $2,82 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$  para FT e 79,68% de remoção com  $17,64 \pm 5 \text{ mg.L}^{-1}$  para NT, estes dados não corroboram para o que esperávamos de acordo com o modelo matemático. No entanto, durante o processo de tratamento houve problemas no compressor de ar que ocasionaram uma inconstância no fornecimento de aeração a partir do terceiro dia, e como os modelos mostraram na seção 5.1 e 5.2 este fator é muito significativo para a remoção de poluentes. O tratamento 2, por ter um tempo de retenção hidráulica menor, foi o mais afetado. Dessa forma, tanto os dois experimentos realizados como experimentos adicionais de validação serão refeitos em busca de confirmar ou corrigir eventualidades ocorridas nessa etapa.

**Figura 23 – a) DQO b) FT e c) NT residuais para os sistemas de Tratamento 1, Tratamento 2 e o Controle**



Fonte: Autora, (2025)

Com os tratamentos 1 e 2 foram obtidos melhores resultados, 88,03% e 75,41% de remoção, respectivamente, com menor tempo de tratamento na remoção de DQO (DQO inicial 1200 mg.L<sup>-1</sup>) ao comparado com o estudo realizado por Guan *et al.* (2025) que utilizaram o consórcio *Chlorella sorokiniana* e *Aspergillus oryzae* para tratar efluente de suínos com concentração inicial de DQO de 1200 mg.L<sup>-1</sup> a intensidade luminosa de 4000 lux (em luz fluorescente branca equivale a aproximadamente 54  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) em foto período de claro/escuro de 12/12h e rotação de 130 rpm em um tratamento de 10 dias. A eficiência de remoção final foi próxima de 75%, tendo uma remoção de 60% no sétimo dia de tratamento. Também apresentaram melhores resultados que em Gao *et al.* (2018) ao tratar águas residuais de suinocultura (DQO inicial 1200 mg.L<sup>-1</sup>) durante 10 dias em um fotobioreator com intensidade luminosa de 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  com ciclos de claro/escuro de 12/12h com consórcio de *Chlorella vulgaris* e *Ganoderma lucidum* obtendo uma remoção de 77,62%.

Em relação a remoção de FT (Concentração inicial: 12 mg.L<sup>-1</sup>), o tratamento 1 (99,37% de remoção) e o tratamento 2 (76,77% de remoção) deste estudo apresentaram maiores

remoções que o tratamento realizado pelo consórcio *Penicillium sp.* e *Chlorella sp* para remover uma concentração de 9 mg.L<sup>-1</sup> de FT durante 60 horas (2,5 dias) em um erlenmeyer de 250 mL a 35 °C, 120 rpm e intensidade da luz da iluminação contínua de aproximadamente 60 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, atingindo uma percentual de remoção de 53% (Chen et al., 2020).

O tratamento 1 demonstrou melhores resultados na remoção de FT do que os obtidos em Guo et al (2017) para a remoção de 12,9 mg.L<sup>-1</sup> de FT de efluentes de biogás pela co-cultura *Ganoderma lucidum* e *Chlorella vulgaris* em um fotobioreator com intensidade luminosa de 200 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> com um tempo de retenção hidráulica de 10 dias, que alcançou a de remoção de 84,8%. A remoção de NT (Concentração inicial: 87 mg.L<sup>-1</sup>) obteve um percentual de remoção do tratamento 1 e tratamento 2 maiores que os encontrados neste mesmo com NT inicial de 51,84 mg.L<sup>-1</sup>, alcançando uma remoção de 74,28%

Para o tratamento 1, a expectativa era uma remoção de aproximadamente 117 mg.L<sup>-1</sup> de DQO, enquanto para o tratamento 2, esperava-se uma remoção de 173 mg.L<sup>-1</sup>. No entanto, os valores obtidos foram de 143,8±5 mg.L<sup>-1</sup> mg.L<sup>-1</sup> e 295,24±5 mg.L<sup>-1</sup> mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Apesar de não terem atingido as previsões do modelo matemático, nem os limites estabelecidos pela Diretiva Europeia (DQO < 125 mg.L<sup>-1</sup>), devido a deficiência na aeração, ambos os casos atenderam a algumas regulamentações ambientais.

Os tratamentos foram compatíveis com os limites estabelecidos pela Resolução nº 128/2016 do Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA) do Rio Grande do Sul, que define um intervalo de 150 a 400 mg.L<sup>-1</sup> de DQO para vazões de efluentes entre 20 e 10.000 m<sup>3</sup>/dia. Além disso, o tratamento 1 atingiu os padrões da Deliberação Normativa Conjunta COPAM-CERH/MG nº 8/2022, do estado de Minas Gerais, e da Resolução CONEMA nº 90/2021 do Conselho Estadual de Meio Ambiente do Rio de Janeiro, que estabelecem um limite máximo de 180 mg.L<sup>-1</sup> para descarte de DQO. O tratamento 1 também atendeu à Resolução nº 222/02 do Ministério do Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável do Paraguai, que estipula um limite máximo de 150 mg.L<sup>-1</sup> para o descarte de DQO.

Os valores residuais de NT foram de 11,76±5 mg.L<sup>-1</sup> para o tratamento 2 e 17,64±5 mg.L<sup>-1</sup> para o tratamento 1. Embora esses valores não tenham alcançado as previsões da otimização (Tratamento 1: 8,9 mg.L<sup>-1</sup>; Tratamento 2: 13 mg.L<sup>-1</sup>), ambos atenderam à Resolução CONAMA 430/2011, que estabelece um limite máximo de 20 mg.L<sup>-1</sup> para NT residual, bem como à Resolução nº 222/02 do Ministério do Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável do Paraguai que permite até 40 mg.L<sup>-1</sup>. Além disso, o tratamento 1 cumpriu os requisitos da Diretiva Europeia, que exige NT residual inferior a 15 mg.L<sup>-1</sup>.

No tratamento 1, o FT residual foi de  $0,08 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$ , significativamente abaixo do valor previsto pelo modelo ( $0,7 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Dessa forma, o tratamento atendeu tanto à Diretiva Europeia ( $\text{FT} < 2 \text{ mg.L}^{-1}$ ) quanto à Resolução nº 222/02 do Paraguai ( $\text{FT} < 4 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Para o tratamento 2, embora o modelo não tenha previsto com precisão o resultado devido à baixa confiabilidade, o residual de FT atingiu os padrões paraguaios para descarte, com um valor final de  $2,83 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$ . A Tabela 14 resume os valores obtidos nos tratamentos 1 e 2 e as legislações citadas.

**Tabela 14** - Valores residuais para o tratamento 1 e 2 com os parâmetros de descarte de algumas legislações

Fatores (mg.L <sup>-1</sup> )	T <sub>1</sub>	P <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	P <sub>2</sub>	EEC	Resolution	CONAMA	CONSEMA	COPAM /CONEMA
DQO <sub>residual</sub>	$143,8 \pm 5$	117	$295,2 \pm 5$	173	125	150	-	150-400	180
FT <sub>residual</sub>	$0,08 \pm 0,01$	0,7	$2,83 \pm 0,01$	-	2	4	-	-	-
NT <sub>residual</sub>	$11,76 \pm 5$	8,9	$17,64 \pm 5$	13,65	15	40	20	-	-

T<sub>1</sub>: Tratamento 1; P<sub>1</sub>: Previsão do Tratamento 1; T<sub>2</sub>: Tratamento 2; EEC: Diretiva Europeira P<sub>2</sub>: Previsão do Tratamento 2

Fonte: Autora (2025); Diretiva 91/271/EEC, 2014; Resolución nº 222/02; CONAMA 430/2011; CONSEMA, 128/2016; CONEMA nº 90 de 08/02/2021; a COPAM-CERH/MG nº 8 de 21 de novembro de 2022

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que a remoção de DQO, FT e NT são influenciadas pela carga orgânica, intensidade luminosa e aeração. De acordo com os modelos obtidos, baixas intensidades luminosas favorecem a mixotrofia, beneficiando a remoção de DQO, mas deixa a desejar na remoção de FT e NT. Sendo assim intensidades luminosas próximas a 100  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (Ponto de saturação da *Tetraselmis obliquus*) são mais indicadas. A taxa de aeração entre 1,5 e 2 vvm é mais indicada para a remoção de DQO e formação de *pellets* de microalga-fungo, independente da carga orgânica, já para FT uma aeração entre 2 e 2,5 vvm será requerida em concentrações próximas a 3000 mg.L<sup>-1</sup>. Além disso, uma aeração acima de 1,12 vvm é essencial para uma boa remoção de poluentes e para que não ocorra a decantação da biomassa. Para atingir o residual da diretiva europeira de DQO utilizando este consórcio, recomenda-se cargas orgânicas máximas de 1200 mg.L<sup>-1</sup>. Concentrações de cargas orgânicas próximas a 3900 mg.L<sup>-1</sup> proporcionam uma maior turbidez ao sistema e maior quantidade de biomassa fúngica, causando sombreamento na microalga, dificultando a fotossíntese e consequentemente a remoção de FT e NT.

Os modelos matemáticos obtidos para o tratamento de 7 dias obtiveram R<sup>2</sup> próximos a 1, para todos os fatores estudados, enquanto para o tratamento de 4 dias, apenas o modelos de DQO e NT obteve R<sup>2</sup> satisfatórios, dada a instabilidade do pH durante os primeiros dias de tratamento, resultando em dados de FT com alto ruído, dificuldando assim a predição pelo modelo matemático.

A validação apresentou instabilidade na aeração durante os últimos dias de tratamento, fazendo com que os resultados obtidos não se enquadrassem nos preditos pelo modelo, o que explicita ainda mais a importância deste fator para o tratamento do efluente. Apesar disso, os parâmetros atingiram algumas normas para o descarte de efluentes industriais. Sendo necessário promover novos experimentos no ponto ótimo de operação e em pontos aleatórios, em condições mais estáveis para a validação do processo e, consequentemente, dos modelos obtidos.

## REFERÊNCIAS

- ADESOGAN, A. T.; DAHL, G. E. MILK Symposium Introduction: Dairy production in developing countries. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 11, p. 9677–9680, nov. 2020. DOI 10.3168/jds.2020-18313.
- AHMAD, I.; ABDULLAH, N.; KOJI, I.; YUZIR, A.; MUHAMMAD, S. E. Evolution of Photobioreactors: a review based on microalgal perspective. **Iop Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 1142, n. 1, p. 012004, 2021. DOI:10.1088/1757-899X/1142/1/012004.
- AHMAD, T.; AADIL, R. M.; AHMED, H.; RAHMAN, U. U.; SOARES, B. C.V.; SOUZA, S. L.Q.; PIMENTEL, T. C.; SCUDINO, H.; GUIMARÃES, J. T.; ESMERINO, E. A.; FREITAS, M. Q.; ALMADA, R. B.; VENDRAMEL, S. M.R.; SILVA, M. C.; CRUZ, A. G. Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 88, p. 361–372, 2019. DOI 10.1016/j.tifs.2019.04.003.
- AKANSHA, J.; NIDHEESH, P.V.; GOPINATH, A.; ANUPAMA, K.V.; SURESH KUMAR, M. Treatment of dairy industry wastewater by combined aerated electrocoagulation and phytoremediation process. **Chemosphere**, v. 253, p. 126652, 2020. DOI 10.1016/j.chemosphere.2020.126652.
- ALI, S.; PETER, A. P.; CHEW, K. W.; MUNAWAROH, H. S. H.; SHOW, P. L. Resource recovery from industrial effluents through the cultivation of microalgae: A review. **Bioresource Technology**, v. 337, p. 125461, 2021. DOI 10.1016/j.biortech.2021.125461.
- ALIZADEH, R.; ALLEN, J. K.; MISTREE, F. Managing computational complexity using surrogate models: a critical review. **Research in Engineering Design**, v. 31, n. 3, p. 275–298, jul. 2020. DOI 10.1007/s00163-020-00336-7.
- BAKRI, M. Assessing some Cladosporium species in the biodegradation of petroleum hydrocarbon for treating oil contamination. **Journal of Applied Microbiology**, v. 133, n. 6, p. 3296–3306, 2022. DOI 10.1111/jam.15815.
- BANSFIELD, D.; SPILLING, K.; MIKOLA, A.; PIIPARINEN, J. Growth of fungi and yeasts in food production waste streams: a feasibility study. **BMC Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 328, 6 nov. 2023. DOI 10.1186/s12866-023-03083-6.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R. E. Planejamento e otimização de experimentos. 2ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1996. 299p.
- BELLA, K; RAO, P. Venkateswara. Anaerobic digestion of dairy wastewater: effect of different parameters and co-digestion options—a review. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 13, n. 4, p. 2527–2552, 2023. DOI 10.1007/s13399-020-01247-2.
- BERZIO, S.; ARAÚJO, J. M.; GEHRING, T.; PHAN, L.C.; TEICHGRÄBER, B.; LÜBKEN, M.; WICHERN, M. Compact pilot-scale aerobic granular sludge system treating real wastewater continuously for over 500 days. **Journal of Water Process Engineering**, v. 53, p. 103847, 2023. DOI 10.1016/j.jwpe.2023.103847.
- BHATNAGAR, P.; GURURANI, P.; SINGH, N.; GAUTAM, P.; VLASKIN, M. S.; KUMAR, V. Review on microalgae protein and its current and future utilisation in the food industry. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 59, n. 1, p. 473–480, 2024. DOI 10.1111/ijfs.16586.

- BINTSIS, T.; PAPADEMAS, P. Sustainable Approaches in Whey Cheese Production: A Review. **Dairy**, v. 4, n. 2, p. 249–270, 2023. DOI 10.3390/dairy4020018.
- BOUCHEKARA, H. R. E. H.; DAHMAN, G.; NAHAS, M. Smart Electromagnetic Simulations: Guidelines For Design Of Experiments Technique. **Progress In Electromagnetics Research B**, v. 31, p. 357–379, 2011. DOI 10.2528/PIERB11052104.
- BOX, G. E. P.; WILSON, K. B. On the Experimental Attainment of Optimum Conditions. In: KOTZ, Samuel; JOHNSON, Norman L. (orgs.). **Breakthroughs in Statistics**. New York, NY: Springer New York, 1992. p. 270–310. DOI 10.1007/978-1-4612-4380-9\_23.
- BUCCIARELLI, A.; GRECO, G.; CORRIDORI, I.; PUGNO, N. M.; MOTTA, . A Design of Experiment Rational Optimization of the Degumming Process and Its Impact on the Silk Fibroin Properties. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 7, n. 4, p. 1374–1393, 2021. ISSN: 2373-9878, 2373-9878. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.0c01657.
- BUCHANAN, D.; MARTINDALE, W.; ROMEIH, E.; HEBISHY, E. Recent advances in whey processing and valorisation: Technological and environmental perspectives. **International Journal of Dairy Technology**, v. 76, n. 2, p. 291–312, 2023. DOI 10.1111/1471-0307.12935.
- BUFFO, M. M.; ESPERANÇA, M. N.; BÉTTEGA, R.; FARINAS, C. S.; BADINO, Alberto C. Oxygen Transfer and Fragmentation of *Aspergillus niger* Pellets in Stirred Tank and Concentric-Duct Airlift Bioreactors. **Industrial Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 67–74, 2020. DOI 10.1089/ind.2020.29199.mmb.
- BUFFO, M. M.; ESPERANÇA, M. N.; FARINAS, C. S.; BADINO, A. C. Relation between pellet fragmentation kinetics and cellulolytic enzymes production by *Aspergillus niger* in conventional bioreactor with different impellers. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 139, p. 109587, 2020. DOI 10.1016/j.enzmictec.2020.109587.
- CAO, W.; WANG, X.; SUN, S.; HU, C.; ZHAO, Y. Simultaneously upgrading biogas and purifying biogas slurry using cocultivation of Chlorella vulgaris and three different fungi under various mixed light wavelength and photoperiods. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 701–709, 2017. DOI 10.1016/j.biortech.2017.05.194.
- CHARALAMBOUS, Panagiotis; SHIN, Juhee; SHIN, Seung Gu; VYRIDES, Ioannis. Anaerobic digestion of industrial dairy wastewater and cheese whey: Performance of internal circulation bioreactor and laboratory batch test at pH 5-6. **Renewable Energy**, v. 147, p. 1–10, mar. 2020. DOI 10.1016/j.renene.2019.08.091.
- CHEN, H.; FU, Q.; JIANG, P.; WU, C. Mitigation of photoinhibition in Isochrysis galbana by the construction of microalgal-bacterial consortia. **Journal of Applied Phycology**, v. 34, n. 6, p. 2883–2894, dez. 2022. DOI 10.1007/s10811-022-02742-x.
- CHEN, J.; DING, L.; LIU, R.; XU, S.; LI, L.; GAO, L.; WEI, L.; LENG, S.; LI, J.; LI, J.; LENG, L.; ZHOU, W. Hydrothermal Carbonization of Microalgae-Fungal Pellets: Removal of Nutrients from the Aqueous Phase Fungi and Microalgae Cultivation. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 8, n. 45, p. 16823–16832, 2020. DOI 10.1021/acssuschemeng.0c05441.
- CHEN, J.; DING, L.; LIU, R.; XU, S.; LI, L.; GAO, L.; WEI, L.; LENG, S.; LI, J.; LI, J.; LENG, L.; ZHOU, W. Hydrothermal Carbonization of Microalgae-Fungal Pellets: Removal of Nutrients from the Aqueous Phase Fungi and Microalgae Cultivation. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 8, n. 45, p. 16823–16832, 16 nov. 2020. DOI 10.1021/acssuschemeng.0c05441.

- CHILAKAMARRY, C. R.; MIMI SAKINAH, A.M.; ZULARISAM, A.W.; SIROHI, R.; KHILJI, I. A.; AHMAD, N.; PANDEY, A. Advances in solid-state fermentation for bioconversion of agricultural wastes to value-added products: Opportunities and challenges. **Bioresource Technology**, v. 343, p. 126065, 2022. DOI 10.1016/j.biortech.2021.126065.
- CHOWDURY, K. H.; NAHAR, N.; DEB, U. K. The Growth Factors Involved in Microalgae Cultivation for Biofuel Production: A Review. **Computational Water, Energy, and Environmental Engineering**, v. 09, n. 04, p. 185–215, 2020. DOI 10.4236/cweee.2020.94012.
- 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, p. 110689, 2021. DOI 10.1016/j.rser.2020.110689.
- CONN, A. R.; GOULD, N. I.; TOINT, P. L. Trust region methods. 2000. Siam. pp. 19.
- CONSEMA – Conselho Estadual do Meio Ambiente.** Resolução nº 128, de 07 de dezembro de 2006.
- COSTA, J. A. V.; CRUZ, C. G.; DA ROSA, A. P. C. Insights into the technology utilized to cultivate microalgae in dairy effluents. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, p. 102106, 2021. DOI 10.1016/j.bcab.2021.102106.
- CUI, X., YANG, J., FENG, Y., ZHANG, W. Simulation of a novel tubular microalgae photobioreactor with aerated tangent inner tubes: improvements in mixing performance and flashing-light effects. **Archaea**. 2020 DOI 10.1155/2020/8815263.
- CUSTODIO, M.; PEÑALOZA, R.; ESPINOZA, C.; ESPINOZA, W.; MEZARINA, J. Treatment of dairy industry wastewater using bacterial biomass isolated from eutrophic lake sediments for the production of agricultural water. **Bioresource Technology Reports**, v. 17, p. 100891, 2022. DOI 10.1016/j.biteb.2021.100891.
- DASGUPTA, D.; BARMAN, S.; SARKAR, J.; MRIDHA, D.; LABROUSSE, P.; ROYCHOWDHURY, T.; ACHARYA, K.; SARKAR, J.; CHAKRABORTY, N. Mycoremediation of different wastewater toxicants and its prospects in developing value-added products: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 58, p. 104747, 2024. DOI 10.1016/j.jwpe.2023.104747.
- DE ALMEIDA PIRES, T.; CARDOSO, V. L.; BATISTA, F. R. X. Feasibility of Chlorella vulgaris to waste products removal from cheese whey. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 19, n. 6, p. 4713–4722, 2022. DOI 10.1007/s13762-021-03423-x.
- DE ALMEIDA, M.P. G; MOCKAITIS, G.; WEISSBRODT, D. G. Got Whey? The significance of cheese whey at the confluence of dairying, environmental impacts, energy and resource biorecovery. **The Evolving Scholar**, 2021. DOI [10.24404/5fdd3c22eaf7860008874c47](https://doi.org/10.24404/5fdd3c22eaf7860008874c47).
- DE ANDRADE, F. P.; DE FARIA SILVA, C. E.; DOS SANTOS, J.; RIBEIRO, T. R. M.; MEDEIROS, J. A.; DO NASCIMENTO, M. A. A.; SANTOS, G. K. S.; CARNEIRO, W. S.; ALMEIDA, R. M. R. G.; DE OLIVEIRA, A. M. M.; FEIJÓ, F. M.; DA SILVA COSTA, M.; LIMA, G. S. A.; RIBEIRO-JÚNIOR, K. A. L.; TONHOLO, J.. Dairy wastewater treatment by *Tetradesmus* sp. in open system: molecular identification and the effect of light

intensity and organic load in the process. **Energy, Ecology and Environment**, v. 8, n. 4, p. 356–369, 2023. DOI 10.1007/s40974-023-00278-5.

DE ANDRADE, F. P.; GONÇALVES, A. H. S.; DE FARIAS SILVA, C. E.; MACÁRIO, L. R.; DA SILVA, J. V. O. N.; DA GAMA, B. M. V.; ALMEIDA, R. M. R. G.; TONHOLO, J. Treatment of oil-produced water using a fungus–microalga consortium. **Energy, Ecology and Environment**, v. 9, n. 2, p. 144–158, 2024. DOI 10.1007/s40974-023-00307-3.

DE ANDRADE, F.P.; DE FARIAS SILVA, C.E.; MEDEIROS, J.A.; VIEIRA, R.C.; DE SÁ FILHO, M.L.F.; SANTOS, G.K.S. Consortium between microalgae and other microbiological groups: A promising approach to emphasise the sustainability of open cultivation systems for wastewater treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v. 50, p. 103211, 2022. DOI 10.1016/j.jwpe.2022.103211.

DE SÁ FILHO, M. L. F.; DE FARIAS SILVA, C. E.; DE OLIVEIRA, A. M. M.; DE ANDRADE, F. P.; MEDEIROS, J. A.; TONHOLO, J. *Tetradesmus obliquus* to treat groundwater contaminated with nitrate towards a semicontinuous process. **Energy, Ecology and Environment**, v. 8, n. 3, p. 262–272, 2023. DOI 10.1007/s40974-023-00274-9.

DEAN, A.; VOSS, D.; DRAGULJIĆ, D. Response Surface Methodology. In: DEAN, A.; VOSS, D.; DRAGULJIĆ, D. **Design and Analysis of Experiments**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 565–614. DOI 10.1007/978-3-319-52250-0\_16.

DEL OLMO, P.F., ACI’ EN, F.G., FERNANDEZ-SEVILLA, J.M. Productivity analysis in tubular photobioreactors using a dynamic photosynthesis model coupled to computational fluid dynamics particle tracking. **Bioresour. Technol.** 344, 126277, 2022.

DERELI, R. K.; VAN DER ZEE, F. P.; OZTURK, I.; VAN LIER, J. B. Treatment of cheese whey by a cross-flow anaerobic membrane bioreactor: Biological and filtration performance. **Environmental Research**, v. 168, p. 109–117, jan. 2019. DOI 10.1016/j.envres.2018.09.021.

DI NAPOLI, M.; SILVESTRI, B.; CASTAGLIUOLO, G.; CARPENTIERI, A.; LUCIANI, G.; DI MARO, A.; SORBO, S.; PEZZELLA, A.; ZANFARDINO, A.; VARCAMONTI, M. High density polyethylene (HDPE) biodegradation by the fungus *Cladosporium halotolerans*. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 99, n. 2, p. fiac148, 2023. DOI 10.1093/femsec/fiac148.

DÍAZ, A. I.; LACA, A.; DÍAZ, M. Approach to a fungal treatment of a biologically treated landfill leachate. **Journal of Environmental Management**, v. 322, p. 116085, 2022. DOI 10.1016/j.jenvman.2022.116085.

DICKEL, J. D. M.; CARVALHO, J. K.; SILVEIRA, M. A. D.; DOS SANTOS, P. M.; RODRIGUES, M. L. F.; FAGUNDES-KLEN, M. R.; ROSA, C. A.; JOHANN, S.; BUZANELLO, C. V.; DE LUCCA, R. A. S.; DE OLIVEIRA SANTOS, A. R.; DA ROSA, M. F. Aspergillus sclerotiorum lipolytic activity and its application in bioremediation of high-fat dairy wastewater environments. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 13, p. 35517–35527, 2022. DOI 10.1007/s11356-022-24669-z.

DOI 10.1016/j.biortech.2021.126277.

DOS SANTOS CARNEIRO, W.; ANDREOLA, K.; DE FARIAS SILVA, C. E.; VILLAR DA GAMA, B. M.; CORREIA VIEIRA ALBUQUERQUE, R.; MCLAINE DUARTE DE FREITAS, J.; DUARTE DE FREITAS, J. Agglomeration Process of *Spirulina platensis* Powder in Fluidized Bed Improves Its Flowability and Wetting Capacity. **ACS Food Science & Technology**, v. 4, n. 12, p. 3120–3134, 20 dez. 2024. DOI 10.1021/acsfoodscitech.4c00745.

EL-MOSLAMY, S. H.; YAHIA, I. S.; ZAHRAN, H. Y.; KAMOUN, E. A. Novel biosynthesis of MnO NPs using Mycoendophyte: industrial bioprocessing strategies and scaling-up production with its evaluation as anti-phytopathogenic agents. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2052, 2023. DOI 10.1038/s41598-023-28749-z.

EL-SESY, M. E.; IBRAHIM, S. S. Application of central composite design approach for optimization nitrate removal from aqueous solution by immobilized *Pseudomonas putida*. **Water Science and Technology**, v. 83, n. 12, p. 2931–2946, 2021. DOI 10.2166/wst.2021.190.

EMBRAPA - PORTAL EMBRAPA. Disponível em: <https://www.embrapa.br/>. Acesso em 10 de junho de 2023.

ESPINOSA-ORTIZ, E. J.; RENE, E. R.; PAKSHIRAJAN, K.; VAN HULLEBUSCH, E. D.; LENN, P. N.L. Fungal pelleted reactors in wastewater treatment: Applications and perspectives. **Chemical Engineering Journal**, v. 283, p. 553–571, 2016. DOI 10.1016/j.cej.2015.07.068.

ESTIKOMAH, S. A.; SURANTO; SUSILOWATI, A.; MASJKURI, M. Cheese Whey Wastewater: Characterization and Value. **KnE Social Sciences**, 2023. DOI 10.18502/kss.v8i14.13858.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO STAT – Livestock, 2019.

FAYYAD, R. J.; MUSLIM, S. N.; ALI, A. N. M. Application strategies for using fungi and algae as bioremediators: a review. **Plant Archives**, v. 20, n. 1, p. 788-792, 2020. ISSN 0972-5210

FERREIRA, J. A.; VARJANI, S.; TAHERZADEH, M. J. A Critical Review on the Ubiquitous Role of Filamentous Fungi in Pollution Mitigation. **Current Pollution Reports**, v. 6, n. 4, p. 295–309, 2020. DOI 10.1007/s40726-020-00156-2.

FERREIRA, T. F.; SANTOS, P. A.; PAULA, A. V.; DE CASTRO, H. F.; ANDRADE, G. S.S. Biogas generation by hybrid treatment of dairy wastewater with lipolytic whole cell preparations and anaerobic sludge. **Biochemical Engineering Journal**, v. 169, p. 107965, 2021. DOI 10.1016/j.bej.2021.107965.

GAO, S.; HU, C.; SUN, S.; XU, J.; ZHAO, Y.; ZHANG, H. Performance of piggery wastewater treatment and biogas upgrading by three microalgal cultivation technologies under different initial COD concentration. **Energy**, v. 165, p. 360–369, dez. 2018. DOI 10.1016/j.energy.2018.09.190.

GARCÍA-BURGOS, M.; MORENO-FERNÁNDEZ, J.; ALFÉREZ, M.J.M.; DÍAZ-CASTRO, J.; LÓPEZ-ALIAGA, I. New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. **Journal of Functional Foods**, v. 72, p. 104059, 2020. DOI 10.1016/j.jff.2020.104059.

GEED, S. R.; VERMA, J. . Integrated approach for efficient crude oil bioremediation: Bacterial consortium development, mathematical modelling and scalable bioprocess design. **Fuel**, v. 358, p. 130260, 2024. DOI 10.1016/j.fuel.2023.130260.

GHOSH, S.; RUSYN, I.; DMYTRUK, O. V.; DMYTRUK, K. V.; ONYEAKA, H.; GRYZENHOUT, M.; GAFFOROV, Y. Filamentous fungi for sustainable remediation of pharmaceutical compounds, heavy metal and oil hydrocarbons. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, p. 1106973, 2023. DOI 10.3389/fbioe.2023.1106973.

GOLI, A.; SHAMIRI, A.; KHOSROYAR, S.; TALAIEKHOZANI, A.; SANAYE, R.; AZIZI, K. A review on different aerobic and anaerobic treatment methods in dairy industry wastewater. *Journal of Environmental Treatment Techniques*. v. 7, n.1, p 41-113, 2019. ISSN 2309-1185.

GORBOUNOV, M.; TAYLOR, J.; PETROVIC, B.; MASOUDI SOLTANI, S. To DoE or not to DoE? A Technical Review on & Roadmap for Optimisation of Carbonaceous Adsorbents and Adsorption Processes. **South African Journal of Chemical Engineering**, v. 41, p. 111–128, jul. 2022. DOI 10.1016/j.sajce.2022.06.001.

GREGOR, M.; GRZNAR, P.; MOZOL, S.; MOZOLOVA, L. Design of simulation experiments using Central Composite Design. **Acta Simulatio**, v. 9, n. 2, p. 21–25, 2023. DOI 10.22306/asim.v9i2.99.

GU, Y.; LI, Y.; YUAN, F.; YANG, Q. Optimization and control strategies of aeration in WWTPs: A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 418, p. 138008, 2023. DOI 10.1016/j.jclepro.2023.138008.

GUAN, X.; WU, Q.; LI, S.; TENG, Y.; ZHANG, Z.; TAN, S.; ZHU, L. Starch waste addition as a novel strategy enhances pollutant removal and biomass production by microalgae-fungi consortia for swine wastewater treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 506, p. 160127, jan. 2025. DOI 10.1016/j.cej.2025.160127.

GUO, G.; CAO, W.; SUN, S.; ZHAO, Y.; HU, C. Nutrient removal and biogas upgrading by integrating fungal-microalgal cultivation with anaerobically digested swine wastewater treatment. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 6, p. 2857–2866, 2017. DOI 10.1007/s10811-017-1207-2.

GURD, C.; VILLA, R.; JEFFERSON, B. Understanding why fat, oil and grease (FOG) bioremediation can be unsuccessful. **Journal of Environmental Management**, v. 267, p. 110647, ago. 2020. DOI 10.1016/j.jenvman.2020.110647.

HAMAD, A. A.; MOUBASHER, H. A.; MOUSTAFA, Y. M.; MOHAMED, N. H.; ABD-EL RHIM, E. H. Petroleum Hydrocarbon Bioremediation Using Native Fungal Isolates and Consortia. **The Scientific World Journal**, v. 2021, p. 1–13, 2021. DOI 10.1155/2021/6641533.

HASSAN, R. G.; EL-SAID, M. A.; MOHAMED, L. A. Assessment of some bacterial and fungal strains for dairy wastewater treatment. **Egypt J Appl Sci**, v. 35, p. 272-283, 2020.

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

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Pesquisa Trimestral do Leite, 2023.

JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q. **Biotechnology and Bioengineering**. [S. l.]: BoD – Books on Demand, 2019.

JAISWAL, K. K.; DUTTA, S.; BANERJEE, I.; POHRMEN, C. B.; KUMAR, V. Photosynthetic microalgae-based carbon sequestration and generation of biomass in biorefinery approach for renewable biofuels for a cleaner environment. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 13, n. 9, p. 7403–7421, 2023. DOI 10.1007/s13399-021-01504-y.

JANKOVIC, A.; CHAUDHARY, G.; GOIA, F. Designing the design of experiments (DOE) – An investigation on the influence of different factorial designs on the characterization of

complex systems. **Energy and Buildings**, v. 250, p. 111298, 2021. DOI 10.1016/j.enbuild.2021.111298.

KANDASAMY, S.; PARK, W. S.; YOO, J.; YUN, J.; KANG, H. B.; SEOL, K.; OH, M.; HAM, J. S. Characterisation of fungal contamination sources for use in quality management of cheese production farms in Korea. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 33, n. 6, p. 1002–1011, 2020. DOI 10.5713/ajas.19.0553.

KAUR, H.; GUPTA, P.; AHMAD, H.; SHANKARNARAYAN, S. A.; SRIVASTAVA, S.; SAHU, S.; KARUNA, T.; NARANG, T.; GUPTA, S.; GHOSH, A.; RUDRAMURTHY, S. M. Cladosporium halotolerans: Exploring an Unheeded Human Pathogen. **Mycopathologia**, v. 188, n. 6, p. 1027–1040, 2023. DOI 10.1007/s11046-023-00801-6.

KAUR, N. Different treatment techniques of dairy wastewater. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 14, p. 100640, 2021. DOI 10.1016/j.gsd.2021.100640.

KHAN, I.; ALI, M.; AFTAB, M.; SHAKIR, S.; QAYYUM, S.; HALEEM, K. S.; TAUSEEF, I. Mycoremediation: a treatment for heavy metal-polluted soil using indigenous metallotolerant fungi. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 10, p. 622, 2019. DOI 10.1007/s10661-019-7781-9.

KHOLSSI, R.; LOUGRAIMZI, H.; MORENO-GARRIDO, I. Effects of global environmental change on microalgal photosynthesis, growth and their distribution. **Marine Environmental Research**, v. 184, p. 105877, 2023. DOI 10.1016/j.marenvres.2023.105877.

KHURI, A. I.; MUKHOPADHYAY, Siuli. Response surface methodology. **WIREs Computational Statistics**, v. 2, n. 2, p. 128–149, 2010. DOI 10.1002/wics.73.

KIANI, H.; AZIMI, Y.; LI, Y.; MOUSAVI, M.; CARA, F.; MULCAHY, S.; MCDONNELL, H.; BLANCO, A.; HALIM, R. Nitrogen and phosphate removal from dairy processing side-streams by monocultures or consortium of microalgae. **Journal of Biotechnology**, v. 361, p. 1–11, 2023. DOI 10.1016/j.jbiotec.2022.11.011.

KIRAN, B. R.; VENKATA MOHAN, S. Phycoremediation potential of *Tetradesmus* sp. SVMIIICT4 in treating dairy wastewater using Flat-Panel photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 345, p. 126446, 2022. DOI 10.1016/j.biortech.2021.126446.

KLEIN, M. E.; BANGERTER, A.; HALTER, R. J.; COOPER, K.; AGUILAR, Z.; CANUSO, C. M.; DREVETS, W. C.; SCHMIDT, M. E.; PANDINA, G. Efficacy and safety of JNJ-42165279, a fatty acid amide hydrolase inhibitor, in adolescents and adults with autism spectrum disorder: a randomized, phase 2, placebo-controlled study.

**Neuropsychopharmacology**, v. 50, n. 2, p. 480–487, 2025. ISSN: 0893-133X, 1740-634X. DOI: 10.1038/s41386-024-02001-2.

KOLEV SLAVOV, K. A. Dairy Wastewater Treatment Review, Food Technol. Biotechnol. v. 55, n. 1, p. 14–28, 2017.

KRISHNA, R. B.; BHUVANESHWARI, S.; MAJEEED, F.; M, M. M.; JOSE, E.; MOHAN, A. Different treatment methodologies and reactors employed for dairy effluent treatment - A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 46, p. 102622, 2022. DOI 10.1016/j.jwpe.2022.102622.

KUMAR, N.; SHUKLA, P. Microalgal-based bioremediation of emerging contaminants: Mechanisms and challenges. **Environmental Pollution**, v. 337, p. 122591, 2023. DOI 10.1016/j.envpol.2023.122591.

- LAL, A.; BANERJEE, S.; DAS, D. Aspergillus sp. assisted bioflocculation of Chlorella MJ 11/11 for the production of biofuel from the algal-fungal co-pellet. **Separation and Purification Technology**, v. 272, p. 118320, 2021. DOI 10.1016/j.seppur.2021.118320.
- LEE, B.C.Y.; MAHTAB, M.S.; NEO, T.H.; FAROOQI, I.H.; KHURSHEED, A. A comprehensive review of Design of experiment (DOE) for water and wastewater treatment application - Key concepts, methodology and contextualized application. **Journal of Water Process Engineering**, v. 47, p. 102673, 2022. DOI 10.1016/j.jwpe.2022.102673.
- LENG, L.; LI, W.; CHEN, J.; LENG, S.; CHEN, J.; WEI, L.; PENG, H.; LI, J.; ZHOU, W.; HUANG, H. Co-culture of fungi-microalgae consortium for wastewater treatment: A review. **Bioresource Technology**, v. 330, p. 125008, 2021. DOI 10.1016/j.biortech.2021.125008.
- LEÓN-LÓPEZ, A.; PÉREZ-MARROQUÍN, X. A.; ESTRADA-FERNÁNDEZ, A. G.; CAMPOS-LOZADA, G.; MORALES-PEÑALOZA, A.; CAMPOS-MONTIEL, R. G.; AGUIRRE-ÁLVAREZ, G. Milk Whey Hydrolysates as High Value-Added Natural Polymers: Functional Properties and Applications. **Polymers**, v. 14, n. 6, p. 1258, 21 mar. 2022. DOI 10.3390/polym14061258.
- LI, B.; ZHANG, T.; YANG, Z. Immobilizing unicellular microalga on pellet-forming filamentous fungus: Can this provide new insights into the remediation of arsenic from contaminated water? **Bioresource Technology**, v. 284, p. 231–239, 2019. DOI 10.1016/j.biortech.2019.03.128.
- LI, H.; WANG, Z.; FENG, T.; GUO, Y.; LV, J.; LI, N.; LIU, X.; LIU, J. A fungal-algal self-flocculation system and its application to treat filter sludge leachate in the sugar industry. **Environmental Pollution**, v. 338, p. 122718, 2023. DOI 10.1016/j.envpol.2023.122718.
- LI, L.; LIANG, T.; LIU, W.; LIU, Y.; MA, F. A Comprehensive Review of the Mycelial Pellet: Research Status, Applications, and Future Prospects. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 59, n. 39, p. 16911–16922, 2020. DOI 10.1021/acs.iecr.0c01325.
- LI, L.; LIANG, T.; ZHAO, M.; LV, Y.; SONG, Z.; SHENG, T.; MA, F. A review on mycelial pellets as biological carriers: Wastewater treatment and recovery for resource and energy. **Bioresource Technology**, v. 355, p. 127200, 2022. DOI 10.1016/j.biortech.2022.127200.
- LIM, J. S.; LEE, J. H.; KIM, J. M.; PARK, S. W.; KIM, S. W. Effects of morphology and rheology on neofructosyltransferase production by *Penicillium citrinum*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 11, n. 2, p. 100–104, abr. 2006. DOI 10.1007/BF02931891.
- LIU, Y.; LIU, Z.; XIONG, Z.; GENG, Y.; CUI, D.; PAVLOSTATHIS, S. G.; CHEN, H.; LUO, Q.; QIU, G.; DONG, Q.; YANG, L.; SHAO, P.; SHI, H.; LUO, X.; LUO, S. Synergistic optimization of baffles and aeration to improve the Light/Dark cycle of microalgae photobioreactor for enhanced nitrogen removal performance: Computational fluid dynamics and experimental verification. **Bioresource Technology**, v. 410, p. 131293, out. 2024. DOI 10.1016/j.biortech.2024.131293. Di.
- LÓPEZ-SÁNCHEZ, A.; SILVA-GÁLVEZ, A. L.; AGUILAR-JUÁREZ, Ó.; SENÉS-GUERRERO, C.; OROZCO-NUNNELLY, D. A.; CARRILLO-NIEVES, D.; GRADILLA-HERNÁNDEZ, M. S. Microalgae-based livestock wastewater treatment (MbWT) as a circular bioeconomy approach: Enhancement of biomass productivity, pollutant removal and high-value compound production. **Journal of Environmental Management**, v. 308, p. 114612, 2022. DOI 10.1016/j.jenvman.2022.114612.
- MAIORANO, A. E.; DA SILVA, E. S.; PERNA, R. F.; OTTONI, C. A.; PICCOLI, R. A. M.; FERNANDEZ, R. C.; MARESMA, B. G.; RODRIGUES, M. A. Filomena. Effect of agitation

speed and aeration rate on fructosyltransferase production of *Aspergillus oryzae* IPT-301 in stirred tank bioreactor. **Biotechnology Letters**, v. 42, n. 12, p. 2619–2629, 2020. DOI 10.1007/s10529-020-03006-9.

MALDONADO, R. R.; AGUIAR-OLIVEIRA, E.; POZZA, E. L.; COSTA, F. A. A.; FILHO, F. M.; RODRIGUES, M. I. Production of Lipase from *Geotrichum candidum* Using Corn Steep Liquor in Different Bioreactors. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 12, p. 1999–2009, 2014. DOI 10.1007/s11746-014-2552-9.

MALTSEV, Y.; KULIKOVSKIY, M.; MALTSEVA, S. Nitrogen and phosphorus stress as a tool to induce lipid production in microalgae. **Microbial Cell Factories**, v. 22, n. 1, p. 239, 2023. DOI 10.1186/s12934-023-02244-6.

MANEECHOTE, W.; CHEIRSILP, B.; ANGELIDAKI, I.; SUYOTHA, W.; BOONSAWANG, P. Chitosan-coated oleaginous microalgae-fungal pellets for improved bioremediation of non-sterile secondary effluent and application in carbon dioxide sequestration in bubble column photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 372, p. 128675, 2023. DOI 10.1016/j.biortech.2023.128675.

MARAZZI, F.; BELLUCCI, M.; FANTASIA, T.; FICARA, E.; MEZZANOTTE, V. Interactions between Microalgae and Bacteria in the Treatment of Wastewater from Milk Whey Processing. **Water**, v. 12, n. 1, p. 297, 2020. DOI 10.3390/w12010297.

MARTINEZ-RUIZ, M.; VAZQUEZ, K.; LOSOYA, L.; GONZALEZ, S.; ROBLEDO-PADILLA, F.; AQUINES, O.; IQBAL, H. M. N.; PARRA-SALDIVAR, R. Microalgae growth rate multivariable mathematical model for biomass production. **Heliyon**, v. 9, n. 1, p. e12540, jan. 2023. DOI 10.1016/j.heliyon.2022.e12540.

MEDEIROS, J. A.; DE FARIA SILVA, C. E.; SANTOS, G.K.S.; DO NASCIMENTO, M. A. A.; DE ANDRADE, F. P.; DE SÁ FILHO, M. L. F.; DA GAMA, B. M. V.; DA SILVA, J. V. O. N.; ALMEIDA, R. M. R. G. Tertiary treatment of dairy wastewater applying a microalga-fungus consortium. **Environmental Technology**, p. 1–17, 2024. DOI 10.1080/09593330.2024.2357695.

MICROBIAL DECOLOURIZATION OF DISTILLERY EFFLUENT FOR SAFE DISPOSAL: A REVIEW. **Current World Environment**, v. Volume 18, n. issue 2, [s. d.].

MILKPOINT. Tratamento de efluentes na indústria de laticínios. Milkpoint, 2025. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/industria-de-laticinios/tratamento-de-efluentes-na-industria-de-laticinios-211719/>. Acesso em: 3 fev. 2025.

**MINAS GERAIS.** Conselho Estadual de Política Ambiental; Conselho Estadual de Recursos Hídricos de Minas Gerais. Deliberação Normativa Conjunta COPAM-CERH/MG nº 8, de 21 de novembro de 2022. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

**MINISTERIO DEL AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE.** Resolución N° 222/02. Por la cual se establece el Padrón de Calidad de las Aguas en el Territorio Nacional. Assunção: MADES, 2002.

MOHAMMADI, M.; GHEIBI, M.; FATHOLLAHI-FARD, A. M.; EFTEKHARI, M.; KIAN, Z.; TIAN, G. A hybrid computational intelligence approach for bioremediation of amoxicillin based on fungus activities from soil resources and aflatoxin B1 controls. **Journal of**

**Environmental Management**, v. 299, p. 113594, 2021. DOI 10.1016/j.jenvman.2021.113594.

MONTEIRO DOS SANTOS, L.; BARBOSA DA SILVA, J. C.; DE FARIAS SILVA, C. E.; VILLAR DA GAMA, B. M.; ALMEIDA MEDEIROS, J.; MARKOU, G.; ROSAS GARCIA ALMEIDA, Renata Maria; ABUD, Ana Karla De Souza. Co-Cultivation between the Microalga *Tetradesmus obliquus* and Filamentous Fungus *Cunninghamella echinulata* Improves Tertiary Treatment of Cheese Whey Effluent in Semicontinuous Mode. **Processes**, v. 12, n. 8, p. 1573, 2024. DOI 10.3390/pr12081573.

MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. [S. l.]: John Wiley & Sons, 2017.

MORENO OSORIO, J. H.; POLLIO, A.; FRUNZO, L.; LENN, P. N. L.; ESPOSITO, G. A Review of Microalgal Biofilm Technologies: Definition, Applications, Settings and Analysis. **Frontiers in Chemical Engineering**, v. 3, p. 737710, 2021. DOI 10.3389/fceng.2021.737710.

MOTA, E. A.; FELESTRINO, É. B.; LEÃO, V. A.; GUERRA-SÁ, R. Manganese (II) removal from aqueous solutions by *Cladosporium halotolerans* and *Hypocrea jecorina*. **Biotechnology Reports**, v. 25, p. e00431, 2020. DOI 10.1016/j.btre.2020.e00431.

NACER, A.; BOUDJEMA, S.; BOUHAOUS, M.; BOUDOUAIA, N.; BENGHAREZ, Z. Bioremediation of hexavalent chromium by an indigenous bacterium *Bacillus cereus* S10C1: optimization study using two level full factorial experimental design. **Comptes Rendus. Chimie**, v. 24, n. S1, p. 57–70, 2021. DOI 10.5802/cr chim.81.

NAIR, A. T.; MAKWANA, A. R.; AHAMMED, M. M. The use of response surface methodology for modelling and analysis of water and wastewater treatment processes: a review. **Water Science and Technology**, v. 69, n. 3, p. 464–478, 2014. DOI 10.2166/wst.2013.733.

NAIR, R. B.; LENNARTSSON, P. R.; TAHERZADEH, M. J. Mycelial pellet formation by edible ascomycete filamentous fungi, *Neurospora intermedia*. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 31, 2016. DOI 10.1186/s13568-016-0203-2.

NAIR, R. B.; LENNARTSSON, P. R.; TAHERZADEH, M. J. Mycelial pellet formation by edible ascomycete filamentous fungi, *Neurospora intermedia*. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 31, 2016. DOI 10.1186/s13568-016-0203-2.

NAMBOODIRI, M.M.T.; MANIKANDAN, A.; PAUL, T.; PAKSHIRAJAN, K.; PUGAZHENTHI, G. Chitosan production by *Penicillium citrinum* using paper mill wastewater and rice straw hydrolysate as low-cost substrates in a continuous stirred tank reactor. **Environmental Technology**, v. 44, n. 15, p. 2254–2269, 2023. DOI 10.1080/09593330.2022.2026486.

NAMBOODIRI, M.M.T.; MANIKANDAN, Arul; PAUL, Tanushree; PAKSHIRAJAN, Kannan; PUGAZHENTHI, G. Chitosan production by *Penicillium citrinum* using paper mill wastewater and rice straw hydrolysate as low-cost substrates in a continuous stirred tank reactor. **Environmental Technology**, v. 44, n. 15, p. 2254–2269, 3 jul. 2023. DOI 10.1080/09593330.2022.2026486.

NAZOS, T. T.; STRATIGAKIS, N. C.; SPANTIDAKI, M.; LAGOUVARDOU SPANTIDAKI, A.; GHANOTAKIS, D. F. Characterization of Cheese whey Effluents and Investigation of Their Potential to be used as a Nutrient Substrate for Chlorella Biomass

- Production. **Waste and Biomass Valorization**, v. 14, n. 11, p. 3643–3655, 2023. DOI 10.1007/s12649-023-02081-z.
- NEGI, B. B.; DAS, C. Mycoremediation of wastewater, challenges, and current status: A review. **Bioresource Technology Reports**, v. 22, p. 101409, 2023. DOI 10.1016/j.biteb.2023.101409.
- NISHSHANKA, G. K. S. H.; THEVARAJAH, B.; NIMARSHANA, P.H.V.; PRAJAPATI, S. K.; ARIYADASA, T. U. Real-time integration of microalgae-based bioremediation in conventional wastewater treatment plants: Current status and prospects. **Journal of Water Process Engineering**, v. 56, p. 104248, dez. 2023. DOI 10.1016/j.jwpe.2023.104248.
- NUNES, I. V. O.; INOUE, C. H. B.; SOUSA, A. E. R.; CARVALHO, J. C. M.; GOMES, A. M. A.; MATSUDO, M. C. Tertiary treatment of dairy industry wastewater with production of Chlorella vulgaris biomass: evaluation of effluent dilution. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais (Online)**, v. 56, n. 2, p. 365–373, 2021. DOI 10.5327/Z21769478787.
- OCDE/FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook, Estatísticas da Agricultura da OCDE (base de dados), 2023. FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Portal Lactéo.
- OLIVEIRA, C. Y. B.; OLIVEIRA, C. D. L.; PRASAD, R.; ONG, H. C.; ARAUJO, E. S.; SHABNAM, N.; GÁLVEZ, A. O. A multidisciplinary review of *Tetradesmus obliquus*: a microalga suitable for large-scale biomass production and emerging environmental applications. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 3, p. 1594–1618, 2021. DOI 10.1111/raq.12536.
- PADRI, M.; BOONTIAN, N.; TEAUMROONG, N.; PIROMYOU, P.; PIASAI, C. Application of Aspergillus niger F5 as an alternative technique to harvest microalgae and as a phosphorous removal treatment for cassava biogas effluent wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 46, p. 102524, 2022. DOI 10.1016/j.jwpe.2021.102524.
- PALANIVEL, T. M.; PRACEJUS, B.; NOVO, L. A.B. Bioremediation of copper using indigenous fungi Aspergillus species isolated from an abandoned copper mine soil. **Chemosphere**, v. 314, p. 137688, 2023. DOI 10.1016/j.chemosphere.2022.137688.
- PANDEY, A.; SRIVASTAVA, S.; KUMAR, S. Development and cost-benefit analysis of a novel process for biofuel production from microalgae using pre-treated high-strength fresh cheese whey wastewater. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 19, p. 23963–23980, 2020. DOI 10.1007/s11356-020-08535-4.
- PATEL, A. K.; JOUN, J.; SIM, S. J. A sustainable mixotrophic microalgae cultivation from dairy wastes for carbon credit, bioremediation and lucrative biofuels. **Bioresource Technology**, v. 313, p. 123681, 2020. DOI 10.1016/j.biortech.2020.123681.
- PATEL, A.; SINGH, R.; VERMA, T.; GAUR, R. Challenges of Distillery Effluent Treatment and its Bioremediation Using Microorganism: A Review. **Current World Environment**, v. 18, n.2, p 446-461, 2023. DOI <http://dx.doi.org/10.12944/CWE.18.2.03>
- PAULENCO, A.; VINTILA, A. C. N.; VLAICU, A.; CILTEA-UDRESCU, M.; GALAN, A. M. *Nannochloris* sp. Microalgae Strain for Treatment of Dairy Wastewaters. **Microorganisms**, v. 11, n. 6, p. 1469, 2023. DOI 10.3390/microorganisms11061469.
- PEI, X.; REN, H.; LIU, B. Flocculation performance and mechanism of fungal pellets on harvesting of microalgal biomass. **Bioresource Technology**, v. 321, p. 124463, 2021. DOI 10.1016/j.biortech.2020.124463.

PIRES, A. F.; MARNOTES, N. G.; RUBIO, O. D.; GARCIA, A. C.; PEREIRA, C. D. Dairy By-Products: A Review on the Valorization of Whey and Second Cheese Whey. **Foods**, v. 10, n. 5, p. 1067, 2021. DOI 10.3390/foods10051067.

PONIŠT, J.; DUBŠÍKOVÁ, V.; SCHWARZ, M.; SAMEŠOVÁ, D. Methods of processing whey waste from dairies. A review. **Environment Protection Engineering**, v. 47, n. 4, 2021. DOI 10.37190/epc210405.

RAEESOSSADATI, M.J.; AHMADZADEH, H.; MCHENRY, M.P.; MOHEIMANI, N.R. CO<sub>2</sub> bioremediation by microalgae in photobioreactors: Impacts of biomass and CO<sub>2</sub> concentrations, light, and temperature. **Algal Research**, v. 6, p. 78–85, out. 2014. DOI 10.1016/j.algal.2014.09.007.

RAFFA, C. M.; CHIAMPO, F.; GODIO, A.; VERGNANO, A.; BOSCO, F.; RUFFINO, B. Kinetics and Optimization by Response Surface Methodology of Aerobic Bioremediation. Geoelectrical Parameter Monitoring. **Applied Sciences**, v. 10, n. 1, p. 405, 2020. DOI 10.3390/app10010405.

RAGHUNATH, B. V.; PUNNAGAIARASI, A.; RAJARAJAN, G.; IRSHAD, A.; ELANGO, A.; MAHESH KUMAR, G. Impact of Dairy Effluent on Environment—A Review. In: PRASHANTHI, Marimuthu; SUNDARAM, Rajakumar (orgs.). **Integrated Waste Management in India**. Cham: Springer International Publishing, p. 239–249, 2016. DOI 10.1007/978-3-319-27228-3\_22.

RAJALAKSHMI, B. S.; FATHIMA, A. A. S.; JASMINE, B. S.; VASANTHY, M.; SELVI, C. T.; RAJAGOPAL, R.; KHAN, R.; HATAMLEH, A. A.; ALNAFISI, B. K.; GATASHEH, M. K.; CHANG, S. W.; RAVINDRAN, B. Pollutant removal from cheese processing effluent using effective indigenous natural scavengers. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 195, n. 1, p. 12, 2023. DOI 10.1007/s10661-022-10535-5.

RAVI KIRAN, B.; VENKATA MOHAN, S. Phycoremediation potential of *Tetradesmus* sp. SVMIICT4 in treating dairy wastewater using Flat-Panel photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 345, p. 126446, fev. 2022. DOI 10.1016/j.biortech.2021.126446.

RAZA, N.; RIZWAN, M.; MUJTABA, G. Bioremediation of real textile wastewater with a microalgal-bacterial consortium: an eco-friendly strategy. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 14, n. 6, p. 7359–7371, 2024. DOI 10.1007/s13399-022-03214-5.

**RIO DE JANEIRO.** Conselho Estadual de Meio Ambiente. Resolução CONEMA nº 90, de 8 de fevereiro de 2021. Estabelece normas para a qualidade da água e parâmetros para descarte de efluentes. Rio de Janeiro, 2021.

ROBLES-MORALES, D. L.; REYES CERVANTES, A.; DÍAZ-GODÍNEZ, R.; TOVAR-JIMÉNEZ, X.; MEDINA-MORENO, S. A.; JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, A. Design and Performance Evaluation of a Fungi-Bacteria Consortium to Biodegrade Organic Matter at High Concentration on Synthetic Slaughterhouse Wastewater. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 6, p. 223, 2021. DOI 10.1007/s11270-021-05177-1.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Experimental Design and Process Optimization**. [S. l.]: CRC Press, 2014.

ROMÁN-RAMÍREZ, L. A.; MARCO, J. Design of experiments applied to lithium-ion batteries: A literature review. **Applied Energy**, v. 320, p. 119305, 2022. DOI 10.1016/j.apenergy.2022.119305.

ROSA, F. M.; MOTA, T. F. M.; BUSSO, C.; ARRUDA, P. V.; BRITO, P. E. M.; MIRANDA, J. P. M.; TRENTIN, A. B.; DEKKER, R. F. H.; CUNHA, M. A. A. Filamentous Fungi as Bioremediation Agents of Industrial Effluents: A Systematic Review. *Fermentation*, v. 10, n. 3, p. 143, 2024. DOI 10.3390/fermentation10030143.

RUGNINI, L.; ELLWOOD, N. T. W.; COSTA, G.; FALSETTI, A.; CONGESTRI, R.; BRUNO, L. Scaling-up of wastewater bioremediation by *Tetradesmus obliquus*, sequential bio-treatments of nutrients and metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 172, p. 59–64, 2019. DOI 10.1016/j.ecoenv.2019.01.059.

SAEEDIAN, K.; SHOJAOSADATI, S. A.; ZAMIR, S. M.; MOHAMMADI, A. Increasing-Aeration Strategy: a Practical Approach to Enhance the Schizophyllan Production and Improve the Operational Conditions of *Schizophyllum commune* Cultivation in the Stirred Tank and Bubble Column Bioreactors. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 194, n. 5, p. 2284–2300, 2022. DOI 10.1007/s12010-021-03777-5.

SANTOS, G. K. S. Isolamento de fungos filamentosos em sistema aberto de tratamento do soro do leite por microalgas. 2023.

SAR, T.; HARIRCHI, S.; RAMEZANI, M.; BULKAN, G.; AKBAS, M. Y.; PANDEY, A.; TAHERZADEH, M. J. Potential utilization of dairy industries by-products and wastes through microbial processes: A critical review. *Science of The Total Environment*, v. 810, p. 152253, 2022. DOI 10.1016/j.scitotenv.2021.152253.

SAR, T.; OZTURK, M.; TAHERZADEH, M. J.; FERREIRA, J. A. New Insights on Protein Recovery from Olive Oil Mill Wastewater through Bioconversion with Edible Filamentous Fungi. *Processes*, v. 8, n. 10, p. 1210, out. 2020. DOI 10.3390/pr8101210.

SATHYA, K.; NAGARAJAN, K.; CARLIN GEOR MALAR, G.; RAJALAKSHMI, S.; RAJA LAKSHMI, P. A comprehensive review on comparison among effluent treatment methods and modern methods of treatment of industrial wastewater effluent from different sources. *Applied Water Science*, v. 12, n. 4, p. 70, 2022. DOI 10.1007/s13201-022-01594-7.

SATPATI, G. G.; DIKSHIT, P. K.; MAL, N.; PAL, R.; SHERPA, K. C.; RAJAK, R. C.; RATHER, S.; RAGHUNATHAN, S.; DAVOODBASHA, M. A state of the art review on the co-cultivation of microalgae-fungi in wastewater for biofuel production. *Science of The Total Environment*, v. 870, p. 161828, 2023. DOI 10.1016/j.scitotenv.2023.161828.

SATYA, A. D. M.; CHEAH, W. Y.; YAZDI, S. K.; CHENG, Y.; KHOO, K. S.; VO, D. N.; BUI, X. D.; VITHANAGE, Meththika; SHOW, Pau Loke. Progress on microalgae cultivation in wastewater for bioremediation and circular bioeconomy. *Environmental Research*, v. 218, p. 114948, fev. 2023. DOI 10.1016/j.envres.2022.114948.

SCHAGERL, M.; LUDWIG, I.; EL-SHEEKH, M.; KORNAROS, M.; ALI, S. S. The efficiency of microalgae-based remediation as a green process for industrial wastewater treatment. *Algal Research*, v. 66, p. 102775, 2022. DOI 10.1016/j.algal.2022.102775.

SEGERS, F. J. J.; VAN LAARHOVEN, K. A.; HUININK, H. P.; ADAN, O. C. G.; WÖSTEN, H. A. B.; DIJKSTERHUIS, J. The Indoor Fungus *Cladosporium halotolerans* Survives Humidity Dynamics Markedly Better than *Aspergillus niger* and *Penicillium rubens* despite Less Growth at Lowered Steady-State Water Activity. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 82, n. 17, p. 5089–5098, 2016. DOI 10.1128/AEM.00510-16.

SELVAN, S. T.; CHANDRASEKARAN, R.; MUTHUSAMY, S.; RAMAMURTHY, D. Eco-friendly approach for tannery effluent treatment and CO<sub>2</sub> sequestration using unicellular

- green oleaginous microalga *Tetradesmus obliquus* TS03. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 16, p. 48138–48156, 2023. DOI 10.1007/s11356-023-25703-4.
- SHARMA, N.; SAINI, V.; BHAGWANI, H.; YADAV, N.; CHAHAR, D. Dairy Waste Water: A Powerhouse Of Microbial Factories For Biodegradation. **Rasayan Journal of Chemistry**, v. 14, n.4, 2021.
- SHEN, N.; CHIRWA, E. M. N. Live and lyophilized fungi-algae pellets as novel biosorbents for gold recovery: Critical parameters, isotherm, kinetics and regeneration studies. **Bioresource Technology**, v. 306, p. 123041, 2020. DOI 10.1016/j.biortech.2020.123041.
- SHIVAKUMAR, S.; SERLINI, N.; ESTEVES, S. M.; MIROS, S.; HALIM, R.. Cell Walls of Lipid-Rich Microalgae: A Comprehensive Review on Characterisation, Ultrastructure, and Enzymatic Disruption. **Fermentation**, v. 10, n. 12, p. 608, 28 nov. 2024. DOI 10.3390/fermentation10120608.
- SIEGEL, Andrew F. *Practical Business Statistics*. 7. ed. New York: Academic Press, 2016.
- SILVA, J. F.; SILVA, J. R.; SANTOS, A. D.; VICENTE, C.; DRIES, J.; CASTRO, L. M. Continuous-Flow Aerobic Granular Sludge Treatment of Dairy Wastewater. **Water**, v. 15, n. 6, p. 1066, 2023. DOI 10.3390/w15061066.
- SOARES, B. C. V.; QUITÉRIO, SLMR; VENDRAMEL, S. M. R. Tratamento de efluentes na indústria de laticínios. **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ)**, 2018.
- SONG, H.; QIAN, J.; FAN, L.; TODA, T.; LI, H.; SEKINE, M.; SONG, P.; TAKAYAMA, Y.; KOGA, S.; LI, J.; LU, Q.; LI, J.; XU, P.; ZHOU, W. Enhancing biomass yield, nutrient removal, and decolorization from soy sauce wastewater using an algae-fungus consortium. **Algal Research**, v. 68, p. 102878, 2022. DOI 10.1016/j.algal.2022.102878.
- ST»HLE, L.; WOLD, S. Analysis of variance (ANOVA). **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 6, n. 4, p. 259–272, 1989. DOI 10.1016/0169-7439(89)80095-4.
- STASINAKIS, A. S.; CHARALAMBOUS, P.; VYRIDES, I. Dairy wastewater management in EU: Produced amounts, existing legislation, applied treatment processes and future challenges. **Journal of Environmental Management**, v. 303, p. 114152, 2022. DOI 10.1016/j.jenvman.2021.114152.
- SUTHERLAND, D. L.; RALPH, P. J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants - Opportunities and challenges. **Water Research**, v. 164, p. 114921, 2019. DOI 10.1016/j.watres.2019.114921.
- TABELINI, D. B.; LIMA, J. P. P.; BORGES, A. C.; AGUIAR, A. A review on the characteristics and methods of dairy industry wastewater treatment in the state of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Water Process Engineering**, v. 53, p. 103779, 2023. DOI 10.1016/j.jwpe.2023.103779.
- TALUKDAR, D.; JASROTIA, T.; SHARMA, R.; JAGLAN, S.; KUMAR, R.; VATS, R.; KUMAR, R.; MAHNASHI, M. H.; UMAR, A. Evaluation of novel indigenous fungal consortium for enhanced bioremediation of heavy metals from contaminated sites. **Environmental Technology & Innovation**, v. 20, p. 101050, 2020. DOI 10.1016/j.eti.2020.101050.
- THORÉ, E. S.J.; MUYLAERT, K.; BERTRAM, M. G.; BRODIN, Tomas. Microalgae. **Current Biology**, v. 33, n. 3, p. R91–R95, 2023. DOI 10.1016/j.cub.2022.12.032.

TROIANO, D.; ORSAT, V.; DUMONT, M. Use of filamentous fungi as biocatalysts in the oxidation of 5-(hydroxymethyl)furfural (HMF). **Bioresource Technology**, v. 344, p. 126169, 2022. DOI 10.1016/j.biortech.2021.126169.

VAISHNAVI, S.; THAMARAISELVI, C.; VASANTHY, M. Efficiency of Indigenous Microorganisms in Bioremediation of Tannery Effluent. In: GHOSH, Sadhan Kumar (org.). **Waste Water Recycling and Management**. Singapore: Springer Singapore, 2019. p. 151–168. DOI 10.1007/978-981-13-2619-6\_13.

WALDHERR, P.; BLIATSIOU, C.; BÖHM, L.; KRAUME, M. Comparative Study of Fluid Dynamic Stress on *Aspergillus niger* and Model Systems. **Chemie Ingenieur Technik**, v. 96, n. 4, p. 471–485, 2024. DOI 10.1002/cite.202300193.

WANG, J.; TIAN, Q.; CUI, L.; CHENG, J.; ZHOU, H.; ZHANG, Y.; PENG, A.; SHEN, L. Synergism and mutualistic interactions between microalgae and fungi in fungi-microalgae symbiotic system. **Bioresource Technology**, v. 361, p. 127728, 2022. DOI 10.1016/j.biortech.2022.127728.

WANG, J.; TIAN, Q.; CUI, L.; CHENG, J.; ZHOU, H.; ZHANG, Y.; PENG, A.; SHEN, L. Synergism and mutualistic interactions between microalgae and fungi in fungi-microalgae symbiotic system. **Bioresource Technology**, v. 361, p. 127728, out. 2022. DOI 10.1016/j.biortech.2022.127728.

WANG, S.; YANG, K.; ZHU, Y.; ZHU, X.; NIE, D.; JIAO, N.; ANGELIDAKI, I. One-step co-cultivation and flocculation of microalgae with filamentous fungi to valorize starch wastewater into high-value biomass. **Bioresource Technology**, v. 361, p. 127625, 2022. DOI 10.1016/j.biortech.2022.127625.

WIKANDARI, R.; HASNIAH, N.; TAHERZADEH, M. J. The role of filamentous fungi in advancing the development of a sustainable circular bioeconomy. **Bioresource Technology**, v. 345, p. 126531, 2022. DOI 10.1016/j.biortech.2021.126531.

WU, Q.; LI, S.; WANG, H.; WANG, W.; GAO, X.; GUAN, X.; ZHANG, Z.; TENG, Y.; ZHU, L. Construction of an efficient microalgal-fungal co-cultivation system for swine wastewater treatment: Nutrients removal and extracellular polymeric substances (EPS)-mediated aggregated structure formation. **Chemical Engineering Journal**, v. 476, p. 146690, 2023. DOI 10.1016/j.cej.2023.146690.

WU, W.; LI, S.; XIE, P.; LI, X.; CHANG, H.; HO, S. Algal-fungal interactions and biomass production in wastewater treatment: Current status and future perspectives. **Algal Research**, v. 70, p. 103021, 2023. DOI 10.1016/j.algal.2023.103021.

XU, M.; XUE, Z.; LIU, J.; SUN, S.; ZHAO, Y.; ZHANG, H. Observation of few GR24 induced fungal-microalgal pellets performance for higher pollutants removal and biogas quality improvement. **Energy**, v. 244, p. 123171, 2022. DOI 10.1016/j.energy.2022.123171.

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. DOI 10.1016/j.biortech.2018.12.036.

YU, W.; PEI, R.; ZHANG, Y.; TU, Y.; HE, B. Light regulation of secondary metabolism in fungi. **Journal of Biological Engineering**, v. 17, n. 1, p. 57, 2023. DOI 10.1186/s13036-023-00374-4.

ZAHAN, H; MOLLA, A. H.; HAQUE, M. Manjurul. Exploration of Potential Indigenous Fungal Species for Mycoremediation of Industrial Effluent. **Journal of Water Chemistry and Technology**, v. 44, n. 2, p. 123–131, 2022. DOI 10.3103/S1063455X22020114.

ZHANG, K.; HU, J.; YANG, S.; XU, W.; WANG, Z.; ZHUANG, P.; GROSSART, H.; LUO, Z. Biodegradation of polyester polyurethane by the marine fungus *Cladosporium halotolerans* 6UPA1. **Journal of Hazardous Materials**, v. 437, p. 129406, 2022. DOI 10.1016/j.jhazmat.2022.129406.

ZHANG, W.; ZHAO, C.; LIU, J.; SUN, S.; ZHAO, Y.; WEI, J. Effects of exogenous GR24 on biogas upgrading and nutrient removal by co-culturing microalgae with fungi under mixed LED light wavelengths. **Chemosphere**, v. 281, p. 130791, 2021. DOI 10.1016/j.chemosphere.2021.130791.

ZHENG, X.; CONG, W.; GULTOM, S. O.; WANG, M.; ZHOU, H.; ZHANG, J. Manipulation of co-pelletization for *Chlorella vulgaris* harvest by treatment of *Aspergillus niger* spore. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 3, p. 83, 2024. DOI 10.1007/s11274-023-03878-9.

ZORN, S. M. F. E.; REIS, C. E. R.; SILVA, M. B.; HU, B.; DE CASTRO, H. F. Consortium Growth of Filamentous Fungi and Microalgae: Evaluation of Different Cultivation Strategies to Optimize Cell Harvesting and Lipid Accumulation. **Energies**, v. 13, n. 14, p. 3648, 2020. DOI 10.3390/en13143648.