

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE TECNOLOGIA  
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**CINTHYA APARECIDA CRUZ FERREIRA**

**TRATAMENTO DO SORO DO LEITE POR SIMBIOSE LEVEDURA- MICROALGA  
EM REATOR COLUNA DE BOLHAS**

**MACEIÓ  
2023**

CINTHYA APARECIDA CRUZ FERREIRA

**TRATAMENTO DO SORO DO LEITE POR SIMBIOSE LEVEDURA-MICROALGA  
EM REATOR COLUNA DE BOLHAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva

Coorientadora: Josimayra Almeida Medeiros

MACEIÓ  
2023

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

F383t Ferreira, Cinthya Aparecida Cruz.  
Tratamento do soro do leite por simbiose levedura-microalga em reator  
coluna de bolhas / Cinthya Aparecida Cruz Ferreira. – 2023.  
43 f. : il. color.

Orientador: Carlos Eduardo de Farias Silva.  
Coorientadora: Josimayra Almeida Medeiros.  
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia  
Química) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia.  
Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 38-43.

1. Soro de leite. 2. Tratamento de efluentes. 3. Biorremediação. 4.  
Leveduras. 5. Microalgas. 6. Simbiose. I. Título.

CDU: 66.0 : 628.3

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus pelo dom da vida e por nunca me desamparar, dando forças para superar todas as dificuldades encontradas durante a graduação.

Aos meus pais, Lucidalva e José, que dedicaram todos os esforços para que eu chegasse até aqui, por toda motivação durante a graduação e abraçarem esse sonho comigo. Vocês são exemplos de força e determinação.

Aos meus tios, Luís e Dionei, à minha irmã Débora, por estarem sempre me incentivando e a todos que direta ou indiretamente que contribuíram alcançar esse objetivo, levo no coração tudo que fizeram por mim.

Agradeço a Osvaldo, por me escutar em longas horas de conversa e conselhos, sempre me encorajando a prosseguir.

À Josimayra, por todo auxílio e não medir esforços para me ajudar sempre que preciso, pela paciência, compreensão e dedicação. Agradeço a todos do laboratório que estiveram comigo.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo pela atenção e por ter dedicado conhecimento e me direcionado na realização desse trabalho.

Por fim, agradeço aos amigos que fiz durante a graduação, pela companhia nessa jornada. Foram longas horas de estudo, momentos de risada e momentos difíceis, vocês tornaram os dias mais leves.

Vocês foram essenciais na realização desse sonho.

## RESUMO

O setor industrial tem sido destaque devido seu crescimento e contribuição para o desenvolvimento econômico e nesse meio o setor alimentício tem apresentado grande relevância. Esse crescimento tem gerado uma elevada quantidade de resíduos líquidos e sólidos que necessitam de tratamento antes de serem lançados ao meio ambiente para que não causem danos ao solo e a água. Dentre os setores que mais cresce no Brasil, tem-se a indústria de laticínios que representa uma atividade de suma importância para esse setor embora gere grandes impactos ambientais relacionados ao lançamento incorreto dos resíduos sólidos e efluentes líquidos. O soro do leite, subproduto oriundo da produção do queijo, é gerado em alta quantidade e tem um grande potencial poluidor devido a sua alta carga orgânica sendo, desta forma, necessário realizar o tratamento desse efluente da maneira adequada antes de descartá-lo e causar danos. Estudos que viabilizam medidas alternativas, como a biorremediação, vêm sendo desenvolvidos para reduzir a contaminação do meio. A utilização do consórcio levedura-microalga tem sido estudada por ser de baixo custo e aplicação viável, além de apresentar um alto nível de remoção dos nutrientes e ser eficiente na redução da concentração de Demanda Química de Oxigênio (DQO). Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o tratamento do soro do leite (80762,87 mg.L<sup>-1</sup> de DQO, 1373,73 mg.L<sup>-1</sup> de nitrogênio total (NT) e 602,84 mg.L<sup>-1</sup> de fósforo total (FT)) por simbiose utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e a microalga *Tetradismus sp.* em um reator coluna de bolhas. O experimento foi configurado em batelada com diferentes cargas orgânicas (0,5, 1, 2 e 4% v/v) e intensidade luminosa (100 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e aeração (0.5 vvm) constantes. Os resultados obtidos mostraram que o consórcio apresenta maior eficiência, alcançando remoção de 94,07% para DQO, 95,18% para FT e 83,61% para NT. O sistema a levedura foi utilizada isoladamente obteve as eficiências de remoção de 78,22, 77,56 e 58,09% para DQO, NT e FT, respectivamente. No consórcio o crescimento da biomassa foi máximo após 96 horas de experimento para todas concentrações, enquanto que o monossistema apresentou variações, em 0,5% atingiu valor máximo após 72 horas, em 1% após 96 horas e 2 e 4% após 168 horas de experimento. Assim, a biorremediação através da levedura-microalga se apresenta como uma possibilidade para reduzir a carga orgânica e adequar o soro do leite aos níveis exigidos para lançamento em corpos hídricos.

Palavras-Chave: soro do leite, microalgas, leveduras, tratamento de efluentes, biorremediação.

## ABSTRACT

The industrial sector has been highlighted due to its growth and contribution to economic development and in this environment the food sector has shown great relevance. This growth has generated a high amount of liquid and solid waste that needs treatment before being released into the environment so that it does not cause damage to soil and water. Among the fastest growing sectors in Brazil, there is the dairy industry, which represents a very important activity for this sector, although it generates great environmental impacts related to the incorrect release of solid waste and liquid effluents. Whey, a by-product from cheese production, is generated in high quantities and has a great polluting potential due to its high organic load, therefore, it is necessary to treat this effluent properly before discarding it and causing damage. Studies that enable alternative measures, such as bioremediation, have been developed to reduce contamination of the environment. The use of the yeast-microalgae consortium has been studied for its low cost and viable application, in addition to presenting a high level of nutrient removal (nitrogen and phosphate) and being efficient in reducing the concentration of Chemical Oxygen Demand (COD). In this context, the present study aimed to evaluate the treatment of whey (80762.87 mg.L<sup>-1</sup> of COD, 1373.73 mg.L<sup>-1</sup> of total nitrogen (TN) and 602.84 mg.L<sup>-1</sup> of total phosphorus (TP)) by symbiosis using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and the microalgae *Tetradismus sp.* in a bubble column reactor. The experiment was configured in batch with different organic loads (0.5, 1, 2 and 4%) applying a light intensity of 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and aeration of 0.5 vvm. The results showed that the consortium presents greater efficiency, reaching the removal of 94.07% for COD, 83.61% for NT and 95.18% for TP. The system using only the yeasts obtained removal efficiency of 78.22, 77.56 and 58.09% for COD, TN and TP, respectively. In the consortium, the biomass growth was maximum after 96 hours of experiment for all concentrations, while the monosystem presented variations, in 0.5%, maximum value was after 72 hours, in 1% after 96 hours and, 2% and 4%, after 168 hours of experiment. Thus, bioremediation through yeast-microalgae presents itself as a possibility to reduce the organic load and adjust the whey to the levels required for release into water bodies.

Keywords: whey, microalgae, yeasts, effluent treatment, bioremediation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma de processo das etapas realizadas para o desenvolvimento da pesquisa .....	18
Figura 2 - Imagem de microscópio óptico da microalga <i>Tetradismus obliquus</i> LCE-01 com aumento de 400x.....	18
Figura 3 – Sistema de tratamento .....	19
Figura 4 - Curva padrão de DQO .....	22
Figura 5 - Curva padrão de Fósforo Total .....	24
Figura 6 - Desempenho da remediação realizada pelo consórcio entre <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Tetradismus sp</i> , pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e no controle da remoção de DQO presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).....	27
Figura 7 - Desempenho da remediação realizada pelo consórcio entre <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Tetradismus sp</i> , pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e no controle da remoção de NT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D)...	29
Figura 8 - Desempenho da remediação realizada pelo consórcio entre <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Tetradismus sp</i> , apenas pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e no controle da remoção de Fósforo Total presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).....	31
Figura 9 - Dados da contagem celular realizada no consórcio, no monossistema e no controle nas concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).....	33
Figura 10 - Produção máxima de biomassa obtida.....	35
Figura 11 – Controle de pH do consórcio levedura-microalga e levedura.....	36

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Caracterização físico-química do soro do leite .....	25
Tabela 2 - Valores máximos encontrados na contagem celular nos meios estudados .....	32

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	OBJETIVOS.....	11
2.1	Geral.....	11
2.2	Específicos.....	11
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
3.1	A indústria do leite.....	12
3.2	Produção e características do soro do leite.....	13
3.3	Processos de tratamento biológico do soro do leite.....	13
3.4	Microalgas.....	14
3.4.1	Cultivo de microalgas em sistema aberto e fechado.....	14
3.4.2	Reator coluna de bolhas para cultivo de microalgas.....	14
3.4.3	Microalgas e leveduras no tratamento de efluentes.....	15
3.5	Microalgas e leveduras no tratamento do soro do leite.....	16
4	METODOLOGIA.....	18
4.1	Espécies de fungos unicelulares e microalga.....	18
4.2	Efluente bruto.....	19
4.3	Sistemas de tratamento – planejamento experimental.....	19
4.4	Experimentos realizados.....	19
4.4.1	Etapa 1 – Avaliação do tratamento do soro do leite utilizando a levedura em um reator coluna de bolhas.....	20
4.4.2	Etapa 2 – Biorremediação do soro do leite utilizando o consórcio microalga-levedura em um reator coluna de bolhas e intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .....	20
4.4.3	Etapa 3 – Tratamento do soro do leite utilizando apenas contaminantes end\u00f3genos (controle). .....	20
4.5	Caracteriza\u00e7\u00e3o f\u00edsico-qu\u00edmica.....	20

4.5.1	Peso seco celular.....	21
4.5.2	Demanda química de oxigênio – DQO (Método de digestão com dicromato) ..	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
5.1	Caracterização do soro do leite.....	25
5.2	Avaliação dos sistemas de tratamento na remoção da carga poluidora encontrada no soro do leite .....	25
5.2.1	Análises da remoção da demanda química de oxigênio (DQO).....	26
5.2.2	Remoção de nitrogênio total e fósforo total .....	28
5.2.3	Crescimento celular .....	32
5.2.3.1	Peso seco celular .....	34
5.2.4	pH.....	35
6	CONCLUSÕES.....	37
	REFERÊNCIAS .....	32

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos tem favorecido o desenvolvimento do setor industrial brasileiro, tendo como destaque o setor de laticínios devido ao crescimento constante e contribuição para o progresso econômico. O Brasil está entre os maiores produtores mundiais de leite, sendo produzidos mais de 34 bilhões de litros por ano, com produção em 98% dos municípios brasileiros, e com maior presença entre as pequenas e médias propriedades (MAPA, 2022). Entretanto, esse avanço industrial resulta na geração de grandes quantidades de resíduos sólidos e líquidos que necessitam de tratamento antes de serem lançados no meio ambiente.

O soro do leite, principal subproduto da produção de queijos, é gerado em grande quantidade e constituído por diversas substâncias orgânicas biodegradáveis, o que o faz apresentar uma grande carga poluidora, com elevadas concentrações de Demanda Química de Oxigênio (DQO), nitrogênio e fósforo. Por isso, os efluentes oriundos desse setor podem ser considerados com menor biodegradabilidade, sendo assim, torna-se necessário o tratamento desse subproduto antes de ser lançado no solo ou em corpos d'água. Entretanto, as técnicas de remediação convencionais para esse tipo de efluente ainda possui limitações devido ao alto investimento necessário para realizar essa ação. Por isso, estudos que viabilizem medidas alternativas, como a biorremediação, vêm sendo desenvolvidos visando a redução da contaminação do meio associado a um custo menor (CAMMAROTA; TEIXEIRA; FREIRE, 2001; CARVALHO; MENDEZ; LEMA, 2000).

A biorremediação é um método usado para realizar a descontaminação do meio através de organismos vivos, que podem ser plantas ou microrganismos. Essa técnica é comumente usada em solos e águas contaminadas por agentes orgânicos e os biorremediadores são inseridos no meio com o objetivo de potencializar a degradação desses contaminantes (LEGRAMANTI, 2020).

Nesse sentido, a utilização de microalgas como remediador já apresenta dados consistentes, principalmente, com relação a sua eficácia na remoção de nutrientes, como o fósforo e o nitrogênio. Por outro lado, as leveduras, que são seres heterotróficos, são capazes de melhorar as condições do meio em relação a demanda química de oxigênio. Por isso, a utilização da cultura mista (levedura e microalga) torna-se viável, pois as leveduras absorvem a matéria orgânica e fornecem dióxido de carbono para as microalgas, que por sua vez,

fornecerão oxigênio para as leveduras (JI et al., 2013; HONGYANG et al., 2011; LING et al., 2014).

Desta forma, esse trabalho tem por intuito avaliar a eficiência do consórcio levedura-microalga na remediação de efluentes agroindustriais, em específico o soro do leite, proporcionando a redução dos poluentes e o enquadramento do mesmo nos padrões de lançamento em corpos d'água.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Estudar a viabilidade técnica da utilização do consórcio levedura-microalga, referente ao processo de tratamento do soro do leite.

### **2.2 Específicos**

- Caracterizar o soro do leite obtido a partir do processo da produção de queijo;
- Avaliar o desempenho da simbiose levedura-microalga na remoção de contaminantes e da matéria orgânica presentes no soro do leite;
- Otimizar parâmetros que influenciam no tratamento, como carga orgânica (diluição do efluente), tempo de detenção hidráulica.
- Avaliar a produção de biomassa durante o período de tratamento.

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

As indústrias são grandes produtoras de efluentes sólidos e líquidos, e por isso, essas empresas buscam formas de reduzir o impacto causado por esses rejeitos para que assim, atendam as condições especificadas por órgãos ambientais, como a CONAMA. Dentre os setores que contribuem para esse crescimento industrial, destaca-se a indústria de laticínios, que representa uma parte importante desse ramo, porém demanda um elevado consumo de água no seu processo produtivo e em razão disso, há a geração de grandes volumes de efluentes com alta carga poluidora. Desta forma, o uso da biorremediação é uma possibilidade promissora para a remediação desses resíduos líquidos, visto que a utilização de microrganismos proporciona medidas eficazes na remoção dos poluentes, com um custo menor associado. Nesse sentido, o consórcio microalga-levedura se torna uma alternativa propícia para o tratamento de efluentes agroindustriais uma vez que, estudos atuais têm apresentado resultados relevantes com relação ao seu desempenho como remediador.

#### **3.1 A indústria do leite**

O setor de laticínios apresenta uma diversidade de derivados do leite, e devido suas possibilidades, a indústria láctea apresenta destaque dentre os outros setores industriais que contribuem para o desenvolvimento econômico do país. A produção mundial estimada para 2022 é de 937 milhões de toneladas, um aumento expressivo em relação a 2021 (887 milhões de toneladas), para o mesmo ano é esperado que a produção de lácteos alcance um total de 88 milhões de toneladas (FAO, 2022).

O leite, de forma geral, é composto por gorduras, carboidratos (lactose), proteínas e sais minerais e em razão disso os efluentes gerados na indústria de laticínios possuem uma elevada carga poluidora. Deste modo, é necessário conhecer e identificar as etapas da produção, insumos, processos e saídas pois, a geração dos resíduos causa vários impactos ambientais, portanto, este conhecimento permite avaliar e propor melhorias para o setor (MAGANHA, 2008).

### 3.2 Produção e características do soro do leite

Maganha (2008) definiu produtos lácteos como aqueles que são obtidos mediante qualquer elaboração do leite e podem conter aditivos alimentícios e ingredientes necessários para sua preparação. Diante dessa afirmação, sabe-se que temos como produtos lácteos o iogurte, manteiga, creme de leite, leite condensado, requeijão, queijo e muitos outros.

Na produção do queijo, o leite pré-tratado passa por processos de coagulação sob ação das enzimas. Dessa forma, obtém-se duas fases, uma fase sólida (coalhada) e uma fase líquida (soro do leite). O soro do leite, subproduto obtido após a fase de separação do coágulo, apresenta cor amarelo-esverdeada e opaco, com sabor ácido ou doce, representa de 80 a 90% do volume total de leite utilizado para produção de queijo. Na produção de 1 kg de queijo são produzidos até 9 litros de soro que irão conter grande parte da lactose, proteínas, sais e sólidos que estavam presentes no leite *in natura*. Com o crescimento das indústrias e fabricação de queijos em alta escala, esse resíduo passou a representar um problema, pois o descarte incorreto gera consequências ambientais (ANDRADE, 2016; ALVES et al., 2014; ATRA et al., 2005; BALDASSO et al., 2011; MAGANHA, 2008).

### 3.3 Processos de tratamento biológico do soro do leite

Os efluentes gerados pela indústria do leite têm como principais componentes a lactose, gorduras e proteínas que contribuem para sua alta carga poluidora. Os meios de tratamento existentes são, na maioria das vezes, caros e não condizentes com a situação financeira de pequenas e médias empresas desse ramo (VIDAL et al., 2000).

Podem ser consideradas 3 opções distintas para realizar o tratamento de efluentes de queijo: as técnicas de valorização, onde o intuito é recuperar os compostos valiosos, como a proteína e a lactose, os processos físico-químicos que têm por objetivo reduzir os contaminantes presentes e o tratamento biológico (PRAZERES et al., 2012).

Os tratamentos biológicos (aeróbios ou anaeróbios) são frequentemente utilizados, devido sua eficiência e custo relativamente baixo. No uso do tratamento aeróbio verifica-se a presença de oxigênio, podendo ocorrer através de um processo de aeração natural (com utilização de algas) ou forçada (através de aeradores mecânicos), além disso, fatores como controle da vazão, a recirculação dos microrganismos decantados, o fornecimento de oxigênio poderão influenciar nesse tratamento que pode ser feito através de processos comumente

utilizados, entre eles, tem-se: filtros biológicos, lagoas aeradas, processos de lodo ativado, filtros de gotejamento e contadores rotativos (LUCENA, 2016; VIDAL et al., 2000).

### **3.4 Microalgas**

As microalgas fazem parte de um grupo diversificado de organismos podendo ser encontradas em águas doces e salgadas, são seres fotossintéticos e unicelulares que são capazes de formar colônias com pouca ou nenhuma diferenciação celular e contém cerca de 50% de carbono em sua biomassa, sendo esse carbono obtido a partir do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) presentes na atmosfera (MILLEDGE, 2010; SCHMITZ; MAGRO; COLLA, 2012).

As microalgas são microrganismos fotossintéticos que usam o dióxido de carbono ou carboidratos simples para realizar seu crescimento, seu uso como remediador vem sendo muito estudado em processos de tratamentos de efluentes devido à resistência a certas condições presentes em água residuais. Elas são fontes ricas em compostos biologicamente ativos e através do bioprocessamento são capazes de realizar interações simbióticas e, por isso, representam uma interessante alternativa (ASHITIANI et al., 2021; DEMIRBAS, A.; DEMIRBAS, F. M, 2010; DIAS, 2019).

#### **3.4.1 Cultivo de microalgas em sistema aberto e fechado**

A produção de microalgas pode ser desenvolvida em sistemas abertos, como tanques, onde as culturas têm contato com o ar atmosférico. Esses sistemas geralmente apresentam condições naturais e o controle de parâmetros ambientais, como luz, temperatura e pH não são comuns de ser realizados, porém, são sistemas de baixo custo e fácil operação. Nos sistemas fechados, chamados de fotobiorreatores, as culturas não têm contato com ar atmosférico e esse tem sido o tipo de sistema mais empregado no cultivo de microalgas, pois permite que o crescimento das culturas possa ser monitorado, e haja controle também das condições do cultivo (densidade celular, temperatura e outras), nesse modelo, a cultura está menos exposta a contaminações, porém, apresentam custos maiores (DERNER, 2017).

#### **3.4.2 Reator coluna de bolhas para cultivo de microalgas**

Dentre os fotobiorreatores em sistema fechado tem-se o reator coluna de bolhas, que são recipientes onde a cultura não tem contato com o meio ambiente, ou seja, sem troca de gases e contaminantes. Além disso, a utilização desse reator fornece melhor controle das condições do

meio como pH, temperatura, luz e permite maiores concentrações de células. O reator de coluna de bolhas, apresentam como vantagem o baixo custo e uma transferência satisfatória de calor e massa (SINGH; SHARMA, 2012).

O alto custo dos sistemas de cultivo de microalgas está relacionado à necessidade de grandes quantidades de água limpa, entretanto, estudos mostram que a eficiência fotossintética das culturas de microalgas apresenta melhora quando os fotobiorreatores estão dispostos verticalmente e se otimiza a taxa de diluição, nesse contexto foram obtidos um melhor rendimento de biomassa, maior teor de clorofila e maior produção de oxigênio, quando comparado a outros fotobiorreatores (RIVAS et al., 2020; CUARESMA, et al., 2011).

### 3.4.3 Microalgas e leveduras no tratamento de efluentes

As microalgas ao crescerem autotroficamente convertem dióxido de carbono, luz solar, e nutrientes inorgânicos em moléculas como lipídios e açúcares durante a fotossíntese. Geralmente são eficazes na remoção de nitrogênio e fosfato dos efluentes, enquanto produz oxigênio. As espécies *Chlorella* e *Scenedesmus* tem sido amplamente utilizada em processos de tratamento de efluentes, pois resistem as condições adversas de águas residuais (DIAS, et al., 2019).

As leveduras, por sua vez, são microrganismos unicelulares que se reproduzem por brotamento ou gemulação e crescem em pH na faixa de 2,5-8,5, sendo o pH neutro considerado ótimo. Elas são eficientes na remoção de matéria orgânica, apresentam capacidade de crescer e produzir lipídios e outras fontes de carbono como monossacarídeos, aminoácidos, álcoois e polissacarídeos quando presentes em águas residuais. A sua utilização como remediador está condicionada, principalmente, a facilidade em seu cultivo, que pode ser feito em escala comercial, pois esse microrganismo apresenta uma rápida taxa de crescimento (DIAS et al., 2019; LING et al., 2014; KARIM et al., 2021; ICB-USP, 2022).

Vários estudos avaliaram o uso do consórcio levedura-microalga no tratamento de efluentes residuais e produção de bioetanol (WALLS et al., 2019), produção de lipídios, (DIAS et al., 2019), produção de biodiesel (RIVAS et al., 2020), conversão de vinhaça (BARCIA et al., 2020).

Em Ling et al. (2020) a cocultura utilizada foi formada pela levedura *Rhodotorula glutinis* e pela microalga *Chlorella pyrenoidosa* e utilizada em águas residuais domésticas mistas (DQO: 39.000-59.950 mg.L<sup>-1</sup>; nitrogênio total: 1570-2680 mg.L<sup>-1</sup>; fósforo total: 300-873 mg.L<sup>-1</sup>). O processo foi conduzido sob agitação de 200 rpm com intensidade de luz de 2,93W/m<sup>2</sup> e ciclo de 12/12h. As amostras foram colhidas após 72h por sedimentação usando um funil de

divisão e os resultados de remoção obtidos foram de 95,34%, 51,18% e 89,29% para DQO, nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT), respectivamente.

Rivas et al. (2020) observaram em seus estudos utilizando a cultura simbiótica de microalgas e leveduras que com o uso da cocultura em correntes de águas residuais as substâncias inorgânicas como fósforo, nitrogênio e sulfato foram consumidas. O sistema foi composto por um fotobiorreatores (PBR) de 1L a 24° C, com fotoperíodo de 12h e 12h de escuro, utilizando uma intensidade de  $100\mu\text{mol f\u00f3tons.m}^2.\text{s}^{-1}$ . Atrav\u00e9s desse estudo foram obtidos uma concentra\u00e7\u00e3o final de biomassa de  $1,68\text{ g.L}^{-1}$  e de lip\u00eddios em  $0,2903\text{ g.L}^{-1}$  (inicialmente a concentra\u00e7\u00e3o de biomassa foi de  $0,1\text{ g.L}^{-1}$ ).

### 3.5 Microalgas e leveduras no tratamento do soro do leite

A utiliza\u00e7\u00e3o do cons\u00f3cio levedura-microalga no tratamento do soro do leite ainda n\u00e3o \u00e9 discutida efetivamente na literatura, entretanto o uso desses microrganismos, individualmente, na remedia\u00e7\u00e3o desse efluente espec\u00edfico j\u00e1 possuem uma discuss\u00e3o consolidada, principalmente com rela\u00e7\u00e3o as microalgas.

Ria\u00f1o et al. (2016) utilizaram a microalga *Chlorella sorokiana* a fim de obter biomassa a inocula\u00e7\u00e3o foi feita em soro de leite e em seguida tratado anaerobicamente em um reator de 5 L, o efluente foi centrifugado por 5 minutos, 300 rpm, temperatura m\u00e9dia de 27°C e foram usadas quatro lâmpadas fluorescentes a  $54\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Inicialmente o efluente apresentou DQO sol\u00favel de  $16,7\text{ g.L}^{-1}$ , am\u00f4nio  $735\text{ mg.L}^{-1}$  e f\u00f3sforo de  $87\text{ mg.L}^{-1}$ . Ao final do tratamento foram obtidos percentuais de remo\u00e7\u00e3o de 94% para DQO sol\u00favel, 92% para am\u00f4nio e 20% para f\u00f3sforo, al\u00e9m de apresentar desenvolvimento microalgal de  $0,76\text{ g.L}^{-1}$ .

Rugini et al. (2019) estudaram a microalga *Tetradismus obliquus* na amplia\u00e7\u00e3o da biorremedia\u00e7\u00e3o de efluente para isso foram estudadas em escala laboratorial (10 mL) at\u00e9 um fotobiorreator (PBR-100L). As culturas do experimento de bancada foram incubadas por 240h com ilumina\u00e7\u00e3o de  $32\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  com uma propor\u00e7\u00e3o claro-escuro de 14:10, rota\u00e7\u00e3o de 100 rpm, neste caso, foram analisadas tr\u00eas concentra\u00e7\u00f5es. No experimento utilizando o fotobiorreator as condi\u00e7\u00f5es se alteraram em rela\u00e7\u00e3o a intensidade luminosa que passou a ser  $150-210\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e foram manuseadas 500 mL de cultura como in\u00f3culo inicial. O processo alcan\u00e7ou percentuais de remo\u00e7\u00e3o de f\u00f3sforo de 75%, 37% e 20% (Concentra\u00e7\u00f5es iniciais de 2,4, 10,5, 17,4 mg P.L<sup>-1</sup>) na cultura laboratorial e remo\u00e7\u00e3o de 95% para o PBR (Concentra\u00e7\u00e3o inicial de 16,0 mg P.L<sup>-1</sup>).

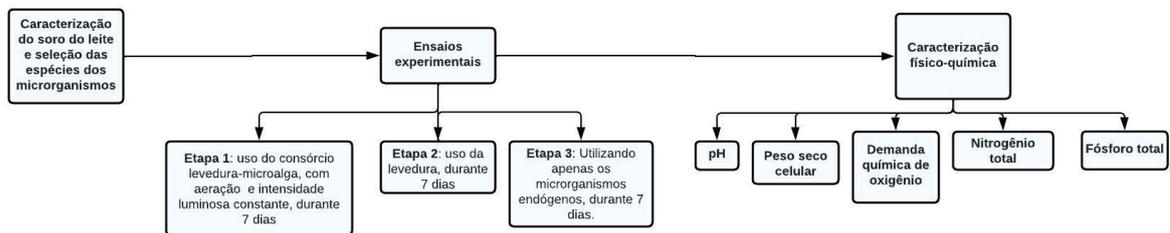
Castillo et al. (2022) estudaram a concentração da L-fenilalanina e lactose na produção de 2-feniletanol por fermentação do soro do leite utilizando as leveduras *Kluyveromyces marxianus* e *Debaryomyces hansenii*. Inicialmente o experimento foi preparado em frascos de 125 mL e preenchido com 30 mL de meio contendo lactose, extrato de levedura e peptona, os frascos foram incubados a 25°C e 200 rpm durante 20 h, numa primeira etapa foram estudados três métodos de esterilização: filtração com membrana, pasteurização e autoclave. Para realizar a fermentação do soro os frascos foram incubados a 25°C e 200 rpm por 96h, amostras de 1 mL foram colhidas para determinação de biomassa (base seca). O soro do leite apresentava pH inicial de 6,50, lactose de 45,0 g.L<sup>-1</sup>, DQO 60,33 g O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>, nitrogênio total de 0,79 g. L<sup>-1</sup> e ao final apresentou DQO de 20,02, 20,43 e 29,73 (filtração com membrana, pasteurização e autoclave, respectivamente) o que corresponde a uma diminuição de 66,69%.

Assunção (2014) estudou as leveduras *S. cerevisiae*, *S. boulardii* e *K. marxianus* a fim de cultivar sua biomassa utilizando permeado de soro do queijo ao final do processo de 30 h, e foi obtido uma redução de DQO de 69,31% (concentração inicial de 164.550 mg O<sub>2</sub>. L<sup>-1</sup> e final de 50.500 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>), 97,67% (concentração inicial de 214.250 e final de 5.000 mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>) e 83,53% (concentração inicial de 125.500 e final de 20.675 mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>) respectivamente. Para produção de biomassa, os valores encontrados foram de 16,54 g.L<sup>-1</sup>, 30,58 g.L<sup>-1</sup> e 21,12 g.L<sup>-1</sup> para *S. cerevisiae*, *S. boulardii* e *K. marxianus* respectivamente.

## 4 METODOLOGIA

Inicialmente, a metodologia consistiu em coletar o efluente estudado (soro do leite) na unidade geradora e em seguida realizar a sua caracterização, quantificando, assim, a sua carga poluidora a partir da determinação de parâmetros como a demanda química de oxigênio (DQO), o nitrogênio total ( $\text{mg N.L}^{-1}$ ) e o fósforo total ( $\text{mg P.L}^{-1}$ ). Posteriormente foram realizados os ensaios experimentais de forma sequenciada e as amostras coletadas foram caracterizadas conforme as análises citadas, como mostrado na Figura 1.

**Figura 1** - Fluxograma de processo das etapas realizadas para o desenvolvimento da pesquisa



Fonte: AUTORA (2022)

### 4.1 Espécies de fungos unicelulares e microalga

A microalga utilizada foi a espécie *Tetrademus obliquus* LCE-01 (Figura 2) . Ela é mantida em meio solidificado de ágar nutriente (Kasvi®) (RIPPKA et al., 1973). A espécie de levedura usada nesse estudo foi a *Saccharomyces cerevisiae* disponível no laboratório, a qual foi ativada em meio YPD (levedura, peptona e dextrose) e posteriormente, colocada para crescer em meio YPDA (Levedura, peptona, dextrose e Agar).

**Figura 2** - Imagem de microscópio óptico da microalga *Tetrademus obliquus* LCE-01 com aumento de 400x.



Fonte: AUTORA (2022)

## 4.2 Efluente bruto

O soro do leite foi coletado em uma fábrica localizada em Batalha – Alagoas, em setembro de 2022, sendo um subproduto da produção de queijo coalho. Ele foi conduzido ao Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos (LTBA) no Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas, onde passou por um processo de separação de partículas sólidas grosseiras através de filtração simples, em papel de filtro qualitativo, e centrifugação (3500 rpm e 15 min) para remoção apenas da parte líquida solúvel, e por fim; o efluente foi congelado (-18 a -12°C).

## 4.3 Sistemas de tratamento – planejamento experimental

O sistema de tratamento utilizado era constituído de frascos vítreos cilíndricos Drechsel de 500 mL (60 mm de diâmetro externo), os quais simulam o comportamento de um reator coluna de bolhas, e receberam 450 mL de volume útil. Quando necessário, foi fornecido ao sistema iluminação artificial (Plafon LED 25W 6500K) de forma constante e com intensidade (medida com um radiômetro Delta Ohm 2302.0) de  $100 \mu\text{mol} \text{ fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . A aeração foi contínua e realizada com uso de um compressor (JEBO 660;  $2 \text{ L.min}^{-1}$ ) ligado a cada reator, conforme a Figura 3.

Figura 3 – Sistema de tratamento



Fonte: AUTORA (2022)

## 4.4 Experimentos realizados

O desenvolvimento da parte experimental desse estudo foi realizado em etapas. Em todas elas foram utilizadas o efluente real (soro do leite) em 4 concentrações (0,5%, 1%, 2% e 4%), as quais foram estabelecidas por estudos anteriores que avaliaram a toxicidade da carga

orgânica presente nesse substrato com relação a microalga. O pH desses meios foi ajustado conforme a necessidade do microrganismo utilizado, desta forma para a levedura e o consórcio microalga-levedura o pH foi conservado entre 7 e 7,5, sendo controlado diariamente.

#### 4.4.1 Etapa 1 – Avaliação do tratamento do soro do leite utilizando a levedura em um reator coluna de bolhas.

Essa etapa consistiu em avaliar o comportamento da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) na remediação do soro do leite com o intuito de avaliar a capacidade desse microrganismo de se adaptar e remover matéria orgânica e nutrientes. Para isso, as leveduras foram inoculadas em todas as concentrações do soro do leite e permaneceram nesse sistema de tratamento durante 7 dias (168 h), sendo as amostras coletadas a cada 24 h.

#### 4.4.2 Etapa 2 – Biorremediação do soro do leite utilizando o consórcio microalga- levedura em um reator coluna de bolhas e intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Essa sequência foi realizada utilizando a *Saccharomyces cerevisiae* e a microalga *Tetrademus sp.* Os biorreatores utilizados nesses ensaios operaram por um período de 7 dias (168h) e as amostras foram coletadas diariamente.

#### 4.4.3 Etapa 3 – Tratamento do soro do leite utilizando apenas contaminantes exógenos (controle).

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

### **4.5 Caracterização físico-química**

Os principais parâmetros utilizados na caracterização dos efluentes foram demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total (NT) e fósforo total (FT). As amostras após serem coletadas passaram por centrifugação a 3500 rpm por 15 min (Centrifuga ACB Labor Dry-Bloch) para separar a fase sólida (lodo microbiano) da líquida, onde os contaminantes são medidos.

#### 4.5.1 Peso seco celular

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

Cálculo:

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

Onde:

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

V = volume tomado da amostra, em mL.

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

Os tubos de ensaio foram lavados com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% (v/v) para eliminar interferentes de amostras anteriores. Foram adicionados aos tubos 2,5 mL da amostra previamente filtradas, 1,5 mL da solução de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio) e 3,5 mL do reagente de ácido sulfúrico (sulfato de prata diluído em ácido sulfúrico). Esse é o método de digestão com dicromato (AOAC, 2002). Os tubos foram, então agitados e colocados no bloco digestor a 150°C por 2 horas. Após o período de digestão, as amostras foram novamente agitadas, resfriadas e submetidas a leituras no espectrofotômetro a 600 nm, os valores obtidos são expressos em mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> de DQO (Shimadzu, UVmini 1240).

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

Cálculo:

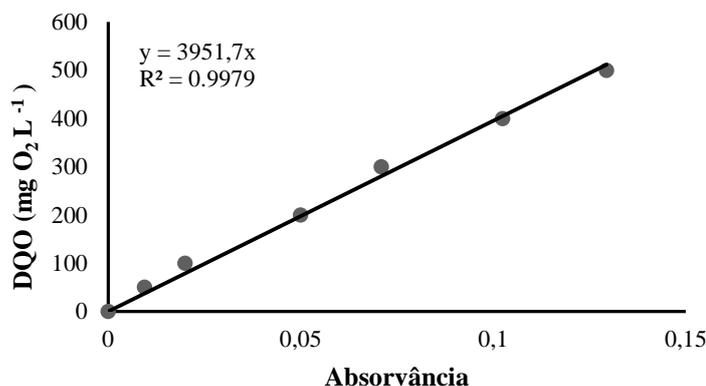
$$\text{Demanda Química de Oxigênio (DQO)} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = 3079,7 * Abs * Diluição \quad (2)$$

Onde:

Abs = Valor da Absorbância obtida em espectrofotômetro;

Diluição = Diluição da amostra.

**Figura 4 - Curva padrão de DQO**



Fonte: AUTORA (2022)

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

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

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

mL. Por fim, a solução do erlenmeyer foi titulada com ácido clorídrico 0,001 N padronizado até o aparecimento da coloração rosada.

Cálculo:

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

Onde:

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

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

$N$  = Normalidade ácido clorídrico;

$V$  = Volume da amostra.

A solução de ácido clorídrico precisou ser padronizada. Para isso, foi colocado certa quantidade de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  PM=106) em estufa a  $100^\circ\text{C}$  por 1 hora, e em seguida levado para um dessecador para esfriar por 15 minutos. Foi pesado cerca de 0,25g de bicarbonato isento de umidade, e o dissolveu em água isenta de  $\text{CO}_2$  (previamente fervida), em seguida foi adicionado 2 gotas de alaranjado de metila e por fim, essa solução foi titulada com a solução de HCL até a primeira coloração.

Cálculo:

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

Onde:

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

$m$  = massa do bicarbonato;

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

$N$  = Normalidade ácido clorídrico.

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

A determinação de fósforo total foi realizada pelo método do ácido ascórbico (AOAC, 2002). Em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL da amostra previamente filtrada e 0,4 mL da solução desenvolvedora de cor, os tubos foram, então, tampados e foi esperado um período de 30 min, em seguida foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 706 nm (Shimadzu, UV-mini 1240).

Cálculo:

$$\text{Fósforo Total (FT) (PO}_4^{3-}) \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) = 10,174 * \text{Abs} * \text{Diluição} \quad (5)$$

Onde:

Abs = Valor da Absorbância obtida em espectrofotômetro;

Diluição = Diluição da amostra.

A solução desenvolvida de cor foi formada pela fração das soluções dada a seguir e possui estabilidade de 4 horas. A = 0,5; B=0,05; C=0,15; D=0,3.

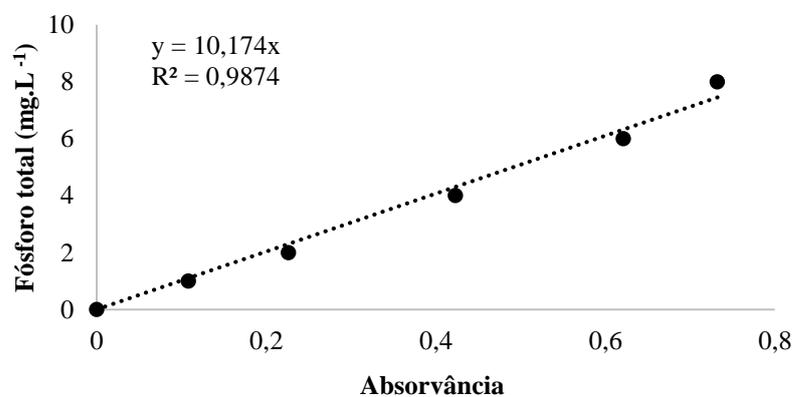
Solução A: ácido sulfúrico 5 N;

Solução B: tartarato misto de antimônio e potássio hemihidratado: 1,3715g de  $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$  para 500 mL de água;

Solução C: mobilidato de amônio: 20 g de  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  em 500mL de água;

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

**Figura 5** - Curva padrão de Fósforo Total



**Fonte:** AUTORA (2022)

#### 4.5.5 Determinação do pH

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

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos serão discutidos de forma temporal, desta forma, será mostrado a caracterização do soro do leite, efluente utilizado durante a realização do estudo, e logo após os experimentos realizados.

### 5.1 Caracterização do soro do leite

O soro do leite, subproduto altamente poluente da indústria de laticínios, apresenta quantidades significativas de compostos orgânicos. A Tabela 1 apresenta os dados obtidos para caracterização do soro do leite coletado.

**Tabela 1** - Caracterização físico-química do soro do leite

Parâmetro	Soro do Leite
DQO (mg O <sub>2</sub> . L <sup>-1</sup> )	80762,87 ± 9,18
Nitrogênio Total (mg N. L <sup>-1</sup> )	1373,72 ± 1,67
Fosforo (mg P. L <sup>-1</sup> )	602,84 ± 0,02
pH	3,48

Fonte: AUTORA (2022)

Andrade (2019) na caracterização do soro do leite encontrou concentrações de  $87.442,38 \pm 2.695,12$  mg O<sub>2</sub>. L<sup>-1</sup> para DQO,  $1518,50 \pm 21,0$  mg N. L<sup>-1</sup> e  $601,32 \pm 4,98$  mg P. L<sup>-1</sup>. Em Leifeld (2014) caracterizou vários tipos de soro de leite encontrando concentrações de  $92267 \pm 6217$  mg.L<sup>-1</sup>,  $1500$  mg.L<sup>-1</sup>,  $151,60 \pm 0,174$  mg.L<sup>-1</sup> para DQO, Nitrogênio Total e Fósforo Total respectivamente. O potencial poluente do soro do leite pode ser influenciado pelo tipo de queijo proveniente, o tratamento térmico dado ao leite e a fonte da matéria-prima, portanto, a variação encontrada entre os valores pode ser justificada por esses fatores e sendo assim, os dados encontrados na pesquisa são coerentes com a literatura encontrada.

### 5.2 Avaliação dos sistemas de tratamento na remoção da carga poluidora encontrada no soro do leite

Para quantificar a carga poluidora foram analisados os parâmetros DQO, NT, FT antes e durante o processo de tratamento, seguindo a metodologia descrita.

### 5.2.1 Análises da remoção da demanda química de oxigênio (DQO)

O soro do leite apresentava concentrações iniciais de 400,11 mg.L<sup>-1</sup> para concentração de 0,5%; 815,04 mg.L<sup>-1</sup> para 1%; 1610,32 mg.L<sup>-1</sup> para 2% e 3240,39 mg.L<sup>-1</sup> para 4%. Utilizando somente levedura *Saccharomyces cerevisiae* obteve-se uma DQO residual de 146,21 mg.L<sup>-1</sup> para 0,5%; 245,01 mg.L<sup>-1</sup> para 1%; 350,71 mg.L<sup>-1</sup> para 2%; 785,40 mg.L<sup>-1</sup> para 4%, com percentual de remoção de 63,46%, 69,94%, 78,22% e 75,76%, respectivamente. A levedura é um microrganismo heterotrófico e o carbono orgânico é sua principal fonte de energia, as taxas de remoção obtidas foram relativamente altas, entretanto durante o processo a levedura pode ter sido exposta a fatores estressantes como a acidez do meio, contaminação bacteriana ou com leveduras não *Saccharomyces*, e por isso não ocorreu a remoção completa (PACHECO, 2010).

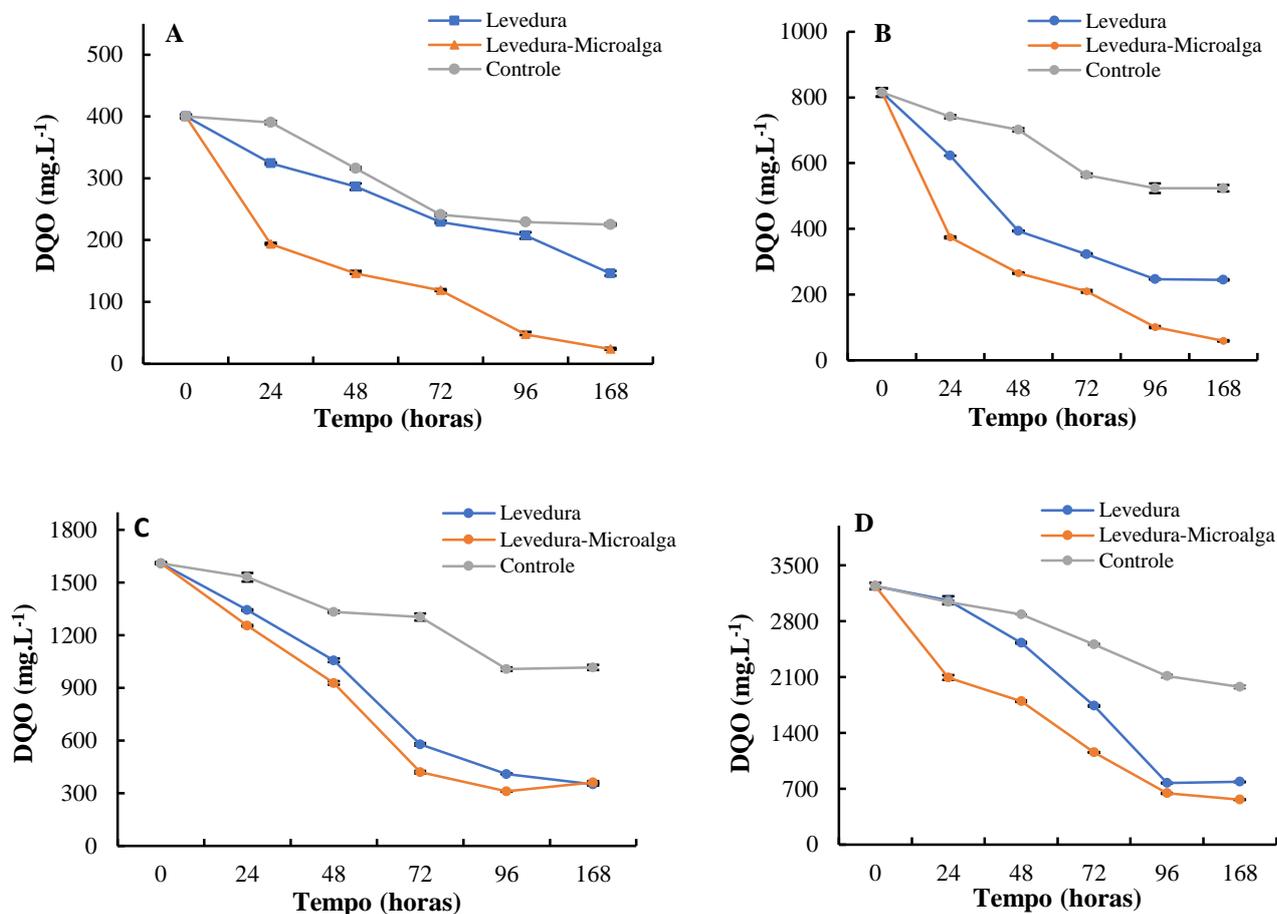
Para o sistema do consórcio levedura-microalga os resultados alcançados para DQO residual foram de 23,71 mg.L<sup>-1</sup> para 0,5%; 59,28 mg.L<sup>-1</sup> para 1%; 361,58 mg.L<sup>-1</sup> para 2%; 563,12 mg.L<sup>-1</sup> para 4%, com percentual de remoção de 75,83%, 83,61%, 80,83% e 82,73%, respectivamente.

Os dados obtidos para remoção de DQO demonstram que o consórcio levedura-microalga apresenta eficiência melhor quando comparado ao monossistema e controle. Esse resultado está dentro do esperado visto que a simbiose favorece ambos os microrganismos. O resultado obtido condiz com o encontrado por Xue et al. (2010) em um co-cultivo de *S. platenis* e *R. glutinis* com DQO inicial de 43.210 mg.L<sup>-1</sup> e alcançou uma remoção de 73% após tratamento. Kumar et al. (2022) em um co-cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* e *Scenedesmus abundans* conseguiram remoção de 83,15 ± 0,2 % para DQO em um efluente com DQO inicial de 68.000 ± 720,082 mg.L<sup>-1</sup> e após o tratamento apresentava 344,1 ± 2,3 mg.L<sup>-1</sup>.

O sistema de controle apresentou DQO residual de 225,25 mg.L<sup>-1</sup> para 0,5%, 523,60 mg.L<sup>-1</sup> para 1%, 1017,56 mg.L<sup>-1</sup> para 2%, 1975,85 mg.L<sup>-1</sup> para 4%. Para esse sistema o percentual de remoção foi de 43,70%, 35,76%, 36,81%, 39,02% respectivamente. O percentual obtido indica que o efluente possui uma degradação lenta, pois após o período analisado a carga poluidora ainda estava elevada e por isso a realização do tratamento com microrganismos próprios para isso é a forma mais viável.

A Figura 6 mostra as curvas comparando os sistemas estudados e evidencia que o consórcio alcançou o melhor resultado.

**Figura 6** - Desempenho da remediação realizada pelo consórcio entre *Saccharomyces cerevisiae* e *Tetradestmus sp.*, pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* e no controle da remoção de DQO presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



Fonte: AUTORA (2022)

É possível observar que mesmo após o período de tratamento, algumas remoções realizadas não se adequaram as legislações vigentes. Além da Resolução CONAMA 430/2011 que fiscaliza os lançamentos de cargas orgânicas e monitoramento da qualidade dos corpos receptores, a Resolução CONAMA 357 de 17 de março de 2005 estabelece os padrões de lançamento de efluentes e as condições de lançamento, direta ou indiretamente, em corpos hídricos após tratamento adequado. Ademais, determina ainda que os órgãos ambientais competentes poderão acrescentar condições e padrões mais restritivos de acordo com os locais, as legislações estaduais como COMDEMA 34/2012 do estado do Amazonas estabelece que efluentes industriais o limite máximo de DQO em 100 mgO<sub>2</sub>/L, já no Ceará a Resolução COEMA 02/2017 estabelece limite de DQO em 200 mgO<sub>2</sub>. L<sup>-1</sup> (MORAIS; SANTOS, 2017).

A Diretiva 91/271/CE (UNIÃO EUROPÉIA, 1991) relativa ao tratamento e lançamento de efluentes residuais e industriais e visa proteger o ambiente contra os efeitos adversos desses

lançamentos. Essa diretiva estabelece que os padrões de lançamento para DQO devem ser de  $125 \text{ mg.L}^{-1}$  e eficiência de remoção mínima de 75%. (WESSLING, 2011).

Baseado nessa diretiva, é possível observar que os valores de DQO encontrados no monossistema e controle (cargas orgânicas de 0,5, 1, 2 e 4 %) não se enquadram nessa legislação, para o consórcio as cargas orgânicas de 2% e 4% ficaram acima do valor estabelecido.

### 5.2.2 Remoção de nitrogênio total e fósforo total

As concentrações iniciais encontradas no soro do leite em relação ao nitrogênio foram de  $8,54 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $16,79 \text{ mg.L}^{-1}$  para 1%,  $21,83 \text{ mg.L}^{-1}$  para 2% e  $40,44 \text{ mg.L}^{-1}$  para 4%. Ao utilizar somente a levedura *Saccharomyces cerevisiae* obteve-se valores residuais de nitrogênio de  $3,50 \text{ mg.L}^{-1}$  para 0,5%;  $7,83 \text{ mg.L}^{-1}$  para 1%;  $10,91 \text{ mg.L}^{-1}$  para 2%;  $22,25 \text{ mg.L}^{-1}$  para 4%, sendo uma eficiência de 71,67%, 73,77%, 75,08%, 77,56% respectivamente, e mostra que os resultados encontrados apresentaram boas taxas de remoção. Segundo Pacheco (2010) a levedura *Saccharomyces cerevisiae* pode utilizar o nitrogênio nas formas amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) ou na forma de aminoácidos, sendo ineficiente para metabolizar nitrato e com baixa capacidade de consumir proteínas do meio.

Os valores residuais do nitrogênio total encontrados no consórcio levedura-microalga adquiridos foram:  $4,20 \text{ mg.L}^{-1}$  para 0,5%;  $11,19 \text{ mg.L}^{-1}$  para 1%;  $13,43 \text{ mg.L}^{-1}$  para 2%;  $26,03 \text{ mg.L}^{-1}$  para 4% representando uma porcentagem de 75,83%, 83,61%, 80,83%, 82,73% respectivamente.

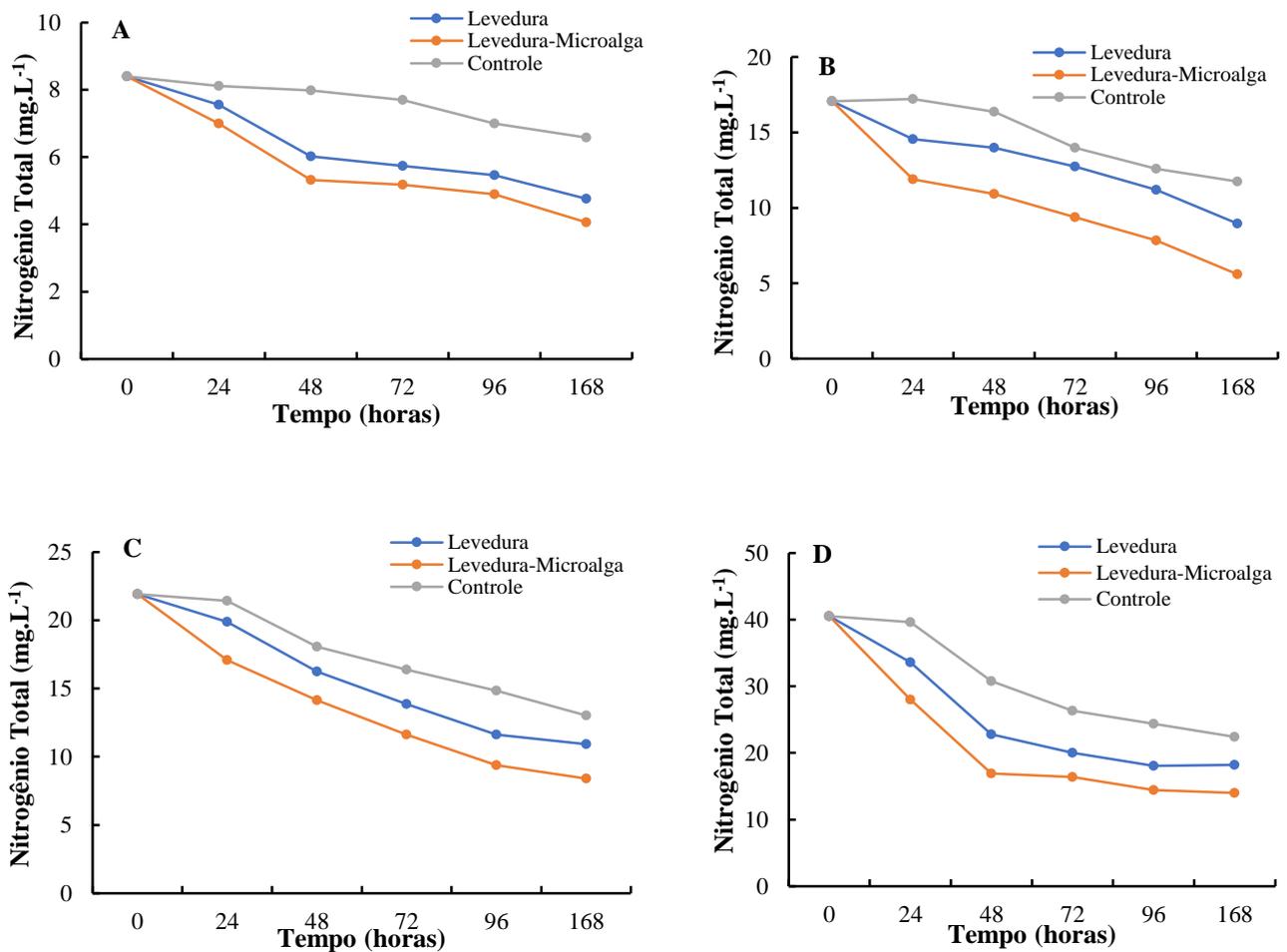
O consórcio levedura-microalga apresentou a melhor eficiência de remoção, pois o nitrogênio é um dos principais nutrientes que influenciam no crescimento das microalgas. Isso porque, esse microrganismo consegue assimilar valores maiores que o necessário, transformando posteriormente, em reserva (biomassa). Em estudo realizado por Ling et al (2014) o sistema de co-cultivo utilizando a levedura *Rhodospiridium toruloides* e a microalga *Chlorella pyrenoidosa* no tratamento de águas residuais domésticas onde apresentaram valor inicial de nitrogênio de  $720 \text{ mg.L}^{-1}$  alcançou remoção de nitrogênio total de  $51,18 \pm 2,17\%$  após 5 dias de cultivo e sem ajuste de pH, o estudo mostrou que os resultados obtidos na eficiência de remoção da cultura mista foram de 5-10% maiores do que da cultura pura. Li et al., (2019) estudaram o uso da levedura *Rhodotorula glutinis* e da microalga *Chlorella pyrenoidosa* no tratamento de águas residuais de suínos, o efluente apresentava concentração inicial de nitrogênio total de  $810,7 \pm 8,45 \text{ mg.L}^{-1}$  e após 6 dias obtiveram remoção 82,65% (concentração de  $140,66 \text{ mg.L}^{-1}$  após tratamento) em escala piloto conduzido no fotobiorreator de 1000 L.

Apesar da melhor eficiência ocorrer no meio de co-cultivo, o monossistema desenvolveu remoção entre 71,67% - 77,56%. O nitrogênio é um nutriente essencial para o crescimento das leveduras, e elas podem utilizar uma série de compostos nitrogenados como fonte de crescimento. Do ponto de vista quantitativo, o fornecimento desse nutriente e a relação mútua entre eles interferem em vários processos metabólicos (CRUZ et al., 2001).

O sistema de controle apresentou valores residuais de 1,68 mg.L<sup>-1</sup> para 0,5%, 5,03 mg.L<sup>-1</sup> para 1%, 8,82 mg.L<sup>-1</sup> para 2%, 18,05 mg.L<sup>-1</sup> para 4%, sendo a remoção de 60,83%, 65,57%, 70,29%, 72,38% respectivamente.

A Figura 7 mostra as curvas de remoção de nitrogênio para o soro do leite nas concentrações estudadas

**Figura 7** - Desempenho da remediação realizada pelo consórcio *entre Saccharomyces cerevisiae e Tetrademus sp*, pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* e no controle da remoção de NT presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



Fonte: AUTORA (2022)

Para o fósforo total as concentrações iniciais encontradas foram de 2,89 mg.L<sup>-1</sup> em 0,5%, 5,91 mg.L<sup>-1</sup> em 2%, 12,26 mg.L<sup>-1</sup> em 2% e 25,16 mg.L<sup>-1</sup> em 4%. No monossistema utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* obteve-se fósforo residual de 1,65 mg.L<sup>-1</sup> para 0,5%; 2,97 mg.L<sup>-1</sup> para 1%; 5,14 mg.L<sup>-1</sup> para 2%; 12,42 mg.L<sup>-1</sup> para 4% com eficiência de 42,88%, 49,78%, 58,09% e 50,61% respectivamente.

Para o consórcio levedura-microalga foram alcançados 0,20 mg.L<sup>-1</sup> para 0,5%; 0,28 mg.L<sup>-1</sup> para 1%; 0,98 mg.L<sup>-1</sup> para 2%; 3,79 mg.L<sup>-1</sup> para 4% correspondendo a uma remoção de 93,15%, 95,18%, 92,01% e 84,93% respectivamente.

O consórcio apresentou o melhor resultado dentre os sistemas analisados, visto que o fósforo é um macronutriente essencial para promover o crescimento e divisão celular da microalga e é importante para a produção de componentes celulares como ATP que é necessário para a conversão do fósforo em polifosfato (YAAKOB et al., 2021).

A remoção expressiva desse nutriente através de microalgas foi demonstrada por Kan et al. (2022), onde estudaram *Chlorococcum oleofaciens*, *Chlorella sorokiniana*, and *Scenedesmus quadricauda* no tratamento de efluentes provenientes de uma fábrica de óleo de palma. O efluente apresentava concentração de fósforo inicial de 820-950 mg.L<sup>-1</sup> e após 14 dias de tratamento utilizando a *Chlorococcum oleofaciens* obtiveram 80-250 mg.L<sup>-1</sup> no efluente tratado, dessa forma, uma remoção de 90-95%. Resultados expressivos também foram vistos em Kumar et al. (2022), que utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e a microalga *Scenedesmus abundans* encontraram no efluente de uma indústria de laticínios 18,11 ± 0,3 mg.L<sup>-1</sup> e após tratamento o efluente apresentou 6,09 ± 0,3 mg.L<sup>-1</sup> sendo assim obtiveram remoção de 60,96 ± 0,5 %.

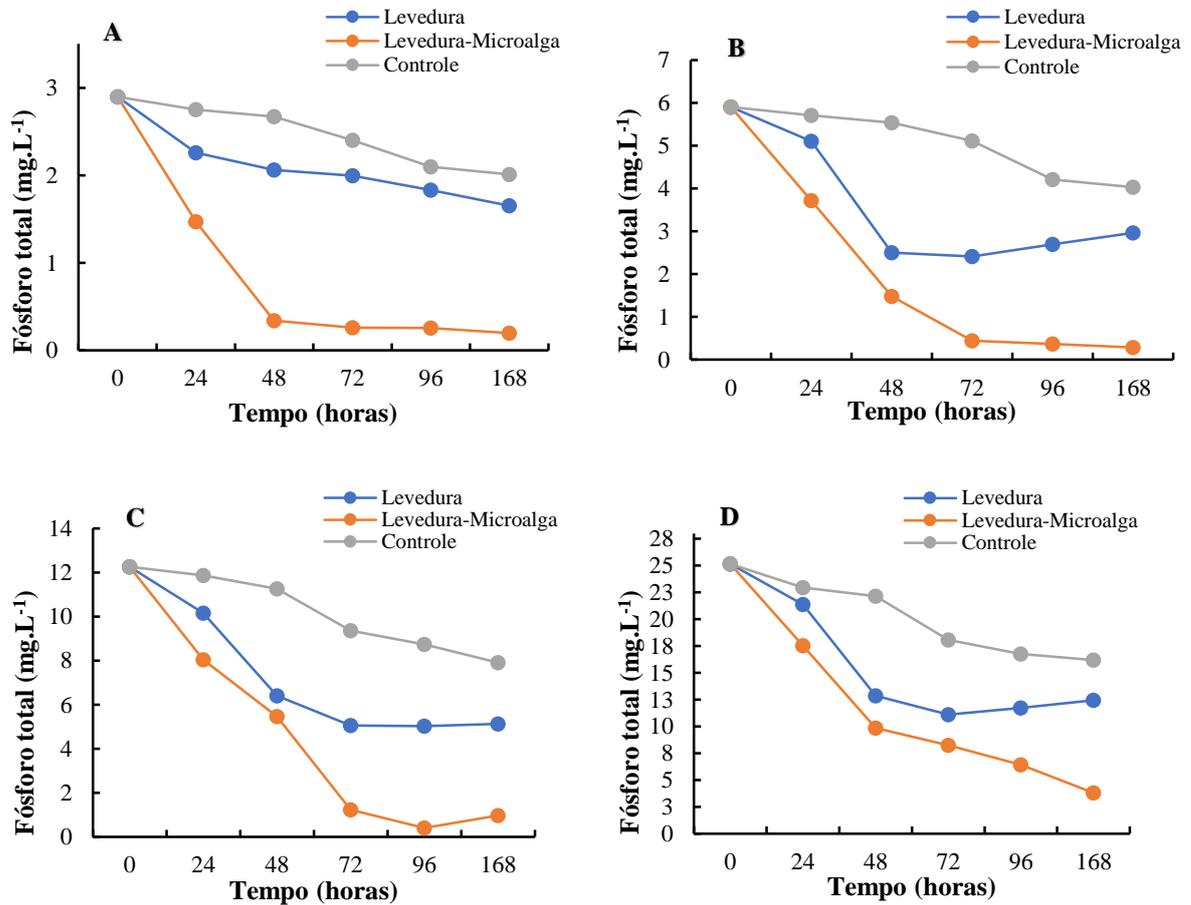
A partir das curvas nota-se que todos os parâmetros analisados apresentaram redução durante o período estudado, com variação maior durante as primeiras 72 horas, o que pode indicar que a partir desse período o meio apresentou esgotamento de nutrientes ou sombreamento celular, ocasionando o início da fase estacionária (ZIMERMANN, 2019).

Desta maneira, o sistema levedura-microalga apresentou melhor desempenho dentre os analisados, essa eficiência resulta da relação simbiótica exercida no meio, visto que o carbono e nitrogênio são indispensáveis para o crescimento e metabolismo da microalga, enquanto que a levedura necessita do oxigênio liberado para realizar suas funções.

O controle apresentou 2,01 mg.L<sup>-1</sup> para 0,5%, 4,03 mg.L<sup>-1</sup> para 1%, 7,91 mg.L<sup>-1</sup> para 2%, 16,20 mg.L<sup>-1</sup> para 4% e remoção respectiva de 30,58%, 31,78%, 35,48%, 35,59% dessa forma, mostra a baixa eficiência do processo e a impossibilidade de lançar o efluente sem nenhum tipo de tratamento.

A Figura 8 exibe a curva de remoção para o fósforo total obtidas a partir do soro do leite estudado.

**Figura 8** - Desempenho da remediação realizada pelo consórcio entre *Saccharomyces cerevisiae* e *Tetrademus sp.* apenas pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* e no controle da remoção de Fósforo Total presente no soro do leite em concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



Fonte: AUTORA (2022)

De acordo a Diretiva 91/271/CE (UNIÃO EUROPÉIA, 1991) para nitrogênio total de 10 mg.L<sup>-1</sup> com remoção de 70-80% e para fósforo total de 1 mg.L<sup>-1</sup> com remoção mínima de 80 % em locais com mais de 100.000 habitantes, caso a população seja inferior a esse valor as concentrações são definidas em 15 mg.L<sup>-1</sup> e 2 mg.L<sup>-1</sup> para nitrogênio e fósforo, respectivamente. Os valores encontrados para nitrogênio total nas cargas orgânicas de 2% e 4% no monossistema, 1, 2 e 4% no consórcio e 4% no controle não se enquadram nos valores estabelecidos da diretiva levando em consideração o limite de 10 mg.L<sup>-1</sup>.

Para o fósforo total, seguindo os parâmetros da diretiva supracitada, os resultados obtidos nas cargas orgânicas do monossistema e controle não atendem ao parâmetro, no

consórcio apenas a carga de 4% não cumpre o valor estabelecido na diretiva considerando o limite de 1 mg.L<sup>-1</sup>.

Desta forma, uma alternativa viável para uso do soro do leite após o processo de biorremediação seria submetê-lo por uma etapa pós-tratamento a fim de adequar o lançamento às exigências dos órgãos ambientais ou utilizá-lo no processo de fertirrigação, em que há a aplicação de fertilizantes via água de irrigação com nutrientes oriundos do processo produtivo industrial, sendo assim uma exploradora da capacidade do sistema solo-planta e do reúso da carga orgânica presentes nos efluentes. Essa prática tem como vantagens a redução dos custos com adubação, auxilia na recuperação de pastagens degradadas, flexibiliza a aplicação, podendo ser aplicada em doses fracionadas conforme a necessidade da cultura, além de aumentar a eficiência pois as perdas são reduzidas. Em estudos realizados foi verificado que o uso do soro do leite gerou melhorias na estrutura do solo, não provocaram alterações no pH visto que foi utilizado um soro com pH de 4,3 e os valores médios do pH no solo ao final do experimento foi de 6,5, e ao aumentar as doses de soro houve um aumento nos teores de potássio, sódio, cálcio, magnésio e fósforo (FERRAZ, 2021; SCHUSTER; GONÇALVES, 2015).

### 5.2.3 Crescimento celular

A contagem celular foi realizada diariamente com a finalidade de mensurar o crescimento dos microrganismos e assim observar o desenvolvimento no meio, com isso, observou-se que sua fase lag (latência) inicia-se durante as 24 horas iniciais, a fase log (crescimento) inicia-se após 48h, a partir das 72 horas o microrganismo entra em fase estacionária e logo após em fase de declínio celular.

Na Tabela 2 estão dispostos os valores máximos encontrados durante o estudo.

**Tabela 2** - Valores máximos encontrados na contagem celular nos meios estudados

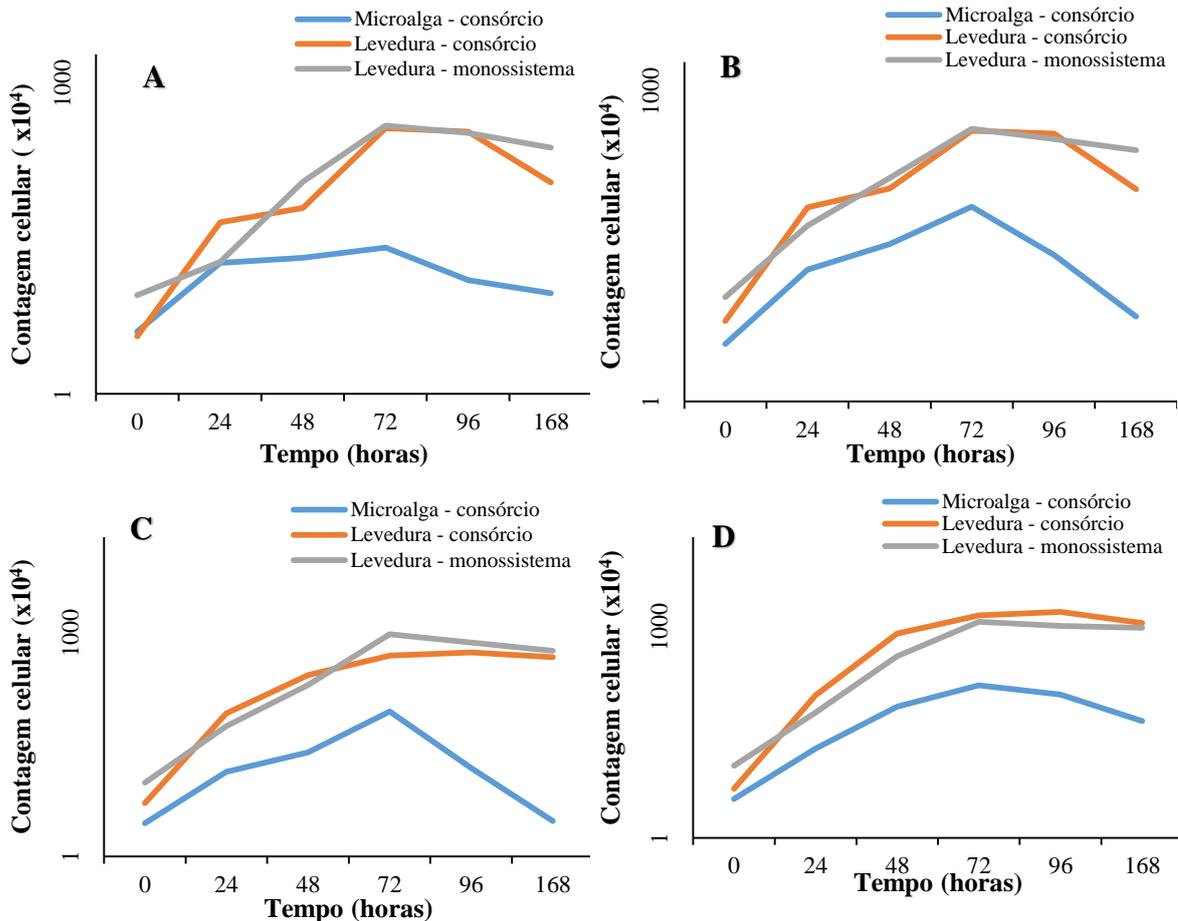
Sistema	0,5%	1%	2%	4%
<b>Levedura (consórcio)</b>	3,68x10 <sup>6</sup>	4,12 x10 <sup>6</sup>	5,44 x10 <sup>6</sup>	16,5 x10 <sup>6</sup>
<b>Microalga (consórcio)</b>	0,260 x10 <sup>6</sup>	0,760 x10 <sup>6</sup>	0,880 x10 <sup>6</sup>	1,48 x10 <sup>6</sup>
<b>Levedura (monossistema)</b>	3,90 x10 <sup>6</sup>	4,30 x10 <sup>6</sup>	5,58 x10 <sup>6</sup>	11,9 x10 <sup>6</sup>

Fonte: AUTORA (2022)

A partir da contagem foi possível analisar a curva de crescimento nas concentrações analisadas e assim, os dados obtidos foram dispostos na Figura 9. É visto que as leveduras tanto no consórcio quanto no monossistema apresentaram crescimento semelhantes e maiores

que a microalga isso indica que os nutrientes presentes no meio são suficientes para que a levedura cresça.

**Figura 9** - Dados da contagem celular realizada no consórcio, no monossistema e no controle nas concentrações de 0,5% (A), 1% (B), 2% (C) e 4% (D).



Fonte: AUTORA (2022)

No co-cultivo, a contagem de leveduras foi maior que a microalga, principalmente no meio mais concentrado (4%), e isso ocorre pois a alta concentração de células pode agir como uma barreira impedindo que a luz alcance uniformemente as microalgas. Em Cheirsilp et al. (2012) a co-cultura foi predominada por leveduras e portanto, foi possível afirmar que a levedura se beneficiou mais da relação mutualística. Esse mesmo comportamento foi observado por Yen et al. (2015), em seus estudos obtiveram biomassa de aproximadamente 10 g. L<sup>-1</sup> no co-cultivo, e estimou-se que cerca de 78% do total da biomassa corresponde a leveduras e 22% a microalga, nesse contexto, os dados sugerem que os benefícios poderiam ser melhores caso houvesse um crescimento equilibrado entre microalgas e leveduras.

No sistema onde a levedura atuou como único microrganismo o crescimento foi semelhante ao do consórcio, nesse caso apresentou crescimento exponencial após as 72h de experimento. O crescimento da levedura ocorre pela alta disponibilidade de nutrientes e durante o desenvolvimento este microrganismo consegue utilizá-los como fonte de alimento e excretar outros produtos, sendo capaz de sintetizar diferentes fontes de carbono (RODRIGUES, 2010).

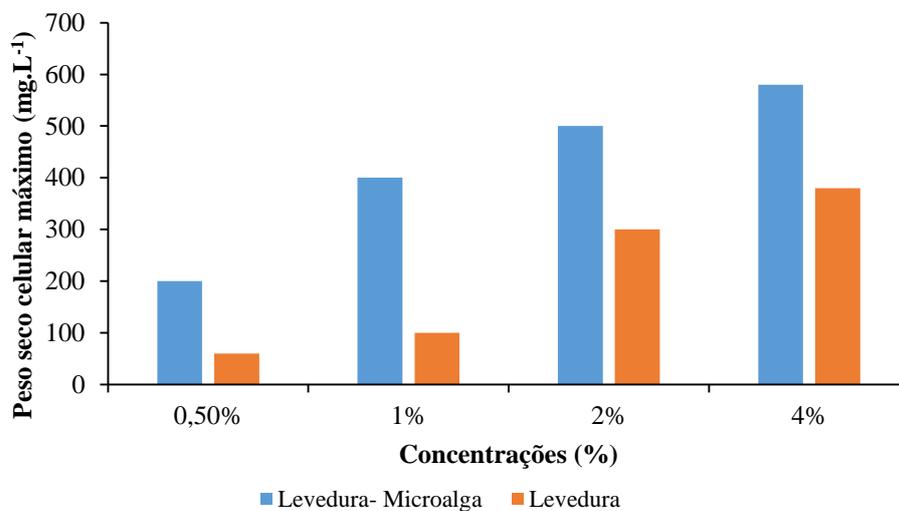
Bach et al. (2014) explicaram esse crescimento como sendo provenientes do teor inicial de carboidratos no mosto presentes naturalmente no soro do leite e também da existência de substratos adequados para o crescimento e desenvolvimento da *S. cerevisiae* como fonte de carbono e nitrogênio orgânico.

### 5.2.3.1 Peso seco celular

O consórcio levedura-microalga apresentou maior concentração de biomassa, sendo obtidos um peso máximo de 200 mg.L<sup>-1</sup> para a concentração de 0,5%, 400 mg L<sup>-1</sup> para 1%, 500 mg.L<sup>-1</sup> para 2% e 580 mg.L<sup>-1</sup> para 4% após 96 horas de estudo. No monossistema foram alcançados 60 mg L<sup>-1</sup> para 0,5%, 100 mg L<sup>-1</sup> para 1%, 300 mg.L<sup>-1</sup> para 2% e 380 mg.L<sup>-1</sup> para 4% após 72 horas, 96 horas e 168 horas de estudo, respectivamente.

Os resultados obtidos em outros estudos foram condizentes ao que foi alcançado neste trabalho, como exemplo, Cheirsilp et al. (2011) alcançaram na cultura mista com a levedura oleaginosa *Rhodotorula glutinis* e microalga *Chlorella vulgaris* a maior biomassa de 4,63 ± 0,15 g. L<sup>-1</sup> em cinco dias de cultivo. Qin et al. (2018) conseguiram alcançar uma produção máxima de biomassa em consórcio usando a levedura *Yarrowia lipolytica* e a microalga *Chlorella vulgaris* que apresentaram produção de biomassa maior para a co-cultura comparado a cultura pura de levedura, sendo aproximadamente 1,62 g. L<sup>-1</sup>, 0,92 g. L<sup>-1</sup> e 0,85 g. L<sup>-1</sup> para co-cultura, levedura e microalga, respectivamente. Através da simbiose relacionada a troca O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> o efeito sinérgico atua também no ajuste do pH e dessa forma, o co-cultivo proporciona uma maior produção de biomassa celular em comparação a monocultura, e por isso, a cultura mista é uma opção em potencial para melhorar a produção de biomassa microbiana.

De acordo a Figura 10 o peso seco celular foi maior na concentração de 4% do consórcio, o meio mais concentrado permitiu o crescimento dos microrganismos devido à alta disponibilidade de matéria orgânica e nutrientes presentes, como já foi visto pelos estudos citados anteriormente.

**Figura 10** - Produção máxima de biomassa obtida

Fonte: AUTORA (2022)

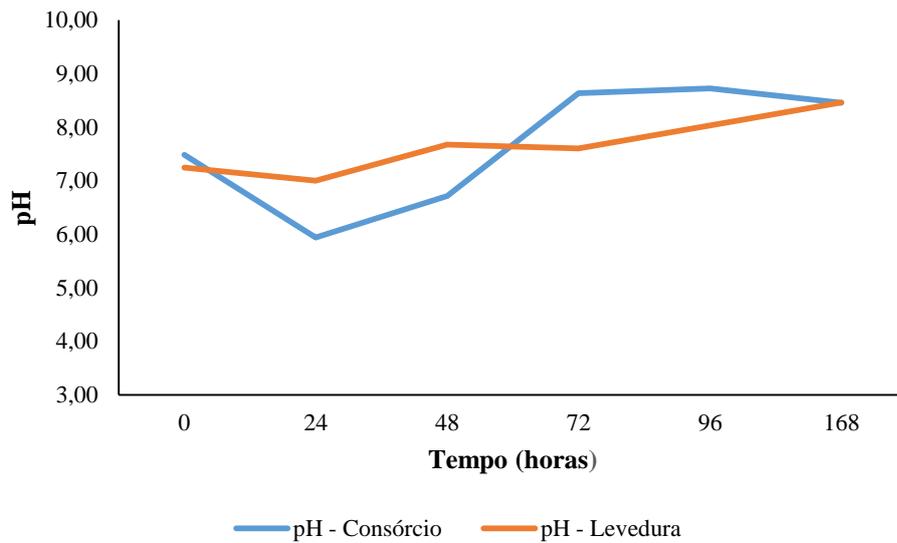
#### 5.2.4 pH

O pH é um dos fatores que influenciam diretamente no desenvolvimento do sistema microbiano, e por isso, requer maior controle no processo. Para o crescimento celular e formação de produtos das microalgas o pH pode ser um fator limitante, sendo requerido uma faixa de pH entre 7,0 e 9,0. Para a levedura o pH ideal está na faixa de 4,0 a 5,0, no entanto, são capazes de tolerar maior variação, sendo o valor máximo suportado em pH 9,0 a partir daí, o microrganismo para de crescer, por isso esse parâmetro é um fator importante para o crescimento desses microrganismos e eficácia do processo. (DIOGÉNES, B.C; CARMO, S. K. S., 2021; ORTEGA, 2021; PACHECO, 2010; PEÑA et al., 2015).

Para o tratamento do soro do leite utilizado, o pH do sistema levedura-microalga foi medido diariamente e ajustado para manter a faixa ótima de desenvolvimento dos microrganismos. Observa-se que, no caso do co-cultivo, ocorreram variações no pH, tendo inicialmente um meio ácido, tornando-se neutro e ao fim do período de estudo, meio alcalino. A variação do pH principalmente nas 72h iniciais do procedimento podem indicar contaminação por bactéria ou predominância da levedura, entretanto, após o ajuste realizado e o pH na faixa de 7,5 – 9,0 indica que houve predominância do crescimento da microalga. Na Figura 11 é mostrado um gráfico comparativo do pH nos sistemas observados. De acordo com Ashtiani et al. (2021), a simbiose permite que os ácidos orgânicos formados pela levedura sejam consumidos pela microalga, e assim, o crescimento das microalgas podem deixar o meio

alcalino. Além disso, as leveduras são capazes de catabolizar açúcares complexos em açúcares simples que são consumidos pela microalga, essa interação é responsável por criar um equilíbrio de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e pH gerando o crescimento de ambos microrganismos.

**Figura 11** – Controle de pH do consórcio levedura-microalga e levedura



Fonte: AUTORA (2022)

Como é possível observar os sistemas iniciaram em pH próximos e ao final do tratamento os valores se assemelham e ficam em torno de 8,45. De acordo a Resolução CONAMA 430/2011 o pH deve estar entre 5,0 e 9,0 para que possa ser feito o lançamento do efluente nos corpos hídricos, desse modo, o tratamento utilizando tanto a levedura quanto o consórcio se mostraram eficazes sem necessidade de recorrer a ajustes posteriores para controle desse parâmetro.

## 6 CONCLUSÕES

Com o estudo realizado, foi possível observar que em concentrações maiores, principalmente no consórcio levedura-microalga, o sistema apresentou resultados eficientes em relação a produção de biomassa, ao crescimento celular e a remoção dos nutrientes.

O controle dos parâmetros como pH e intensidade luminosa foram necessários para o desenvolvimento e eficiência do sistema. O consórcio levedura-microalga se mostrou o método mais favorável para reduzir a carga poluidora encontrada nos efluentes das indústrias de laticínios quando comparados a cultura apenas com leveduras e apenas o soro do leite. Nos sistemas em que as concentrações não atenderam as legislações vigentes pode ser considerado o pós-tratamento ou aplicações alternativas para esse efluente como a fertirrigação, sendo assim uma alternativa plausível além do descarte.

Os dados coletados são importantes para encontrar alternativas com finalidade deste efluente não causar danos ao meio ambiente e a saúde das pessoas e viabilize o lançamento em corpos hídricos de forma sustentável e com melhor custo – benefício.

Para continuidade do estudo sugere-se a realização de trabalho futuros que sejam analisadas as possibilidades de realizar tratamento com maior tempo de remediação e com intensidade luminosa diferente; realizar tratamento contínuo e analisar a forma mais viável para uso do efluente tratado através de um sistema de pós-tratamento ou uso na fertirrigação.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, L. H. **Tratamento de efluente de indústria de laticínios por duas configurações de biorreator com membranas e nanofiltração visando o reuso.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2011.
- ANDRADE, F. P. **Produção de biomassa microalgal a partir do soro do leite visando a produção de bioetanol.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Mestrado Profissional em Energia da Biomassa. Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2019.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry.** 17th ed. Gaithersburg: Ed. William Horwitz, 2002.
- ASHITIANI, F.; JALILI, H.; SEDIGHI, M.; AMRANE, A. **Effect of mixed culture of yeast and microalgae on acetyl-CoA carboxylase and Glycerol-3-phosphate acyltransferase expression.** Journal of Bioscience and Bioengineering, v. 131, nº 4, p. 364e372, 2021.
- ASSUNÇÃO, G. M. **Cultivo de biomassa de leveduras utilizando o permeado de soro de queijo.** Dissertação. Programa de Pós-graduação “Stricto Sensu” em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, Paraná, 2014.
- ATRA et al. **Investigation of ultra and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose.** Journal of Food Engineering, v. 67, n. 3, p. 325-332, 2005.
- BACH, F.; FIORESE, M. L.; HASAN, S. D. M.; MOREJON, C.F.M. **Estudo da influência de variáveis no processo de bioetanol de soro de leite.** ENGEVISTA, v. 16, n.3, p.392-409, 2014.
- BARCIA, G.E.C.; CERVANTES, R. A.I.; ZUNIGAB, I. T.; HENDE, S.V.D. **Converting tequila vinasse diluted with tequila process water into microalgae-yeast flocs and dischargeable efluente.** Bioresource Technology, v. 300, 2020.
- BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. **Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration.** Desalination, v. 278, n. 1-3, p. 381-386, 2011.
- BERNETH, L.; FIRTH, I.; MCALLISTER, RHODES, S. **Biotechnologies for remediation and pollution control in the mining industry.** Miner. Metall. Proc., v. 17, p. 105-111, 2000.
- BOROWITZKA, M.A.; **Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters.** Journal of Biotechnology, v.70, p.313-321, 1999.
- CAMMAROTA, M.C.; TEIXEIRA, G.A; FREIRE, D.M. **A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content.** Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2001.

CARVALHO, A. C.; MENDEZ, R.R; LEMA, J.M. **Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy waste.** *Bioresource Technology*, v.74, p. 231-239, 2000.

CASTILLO, M.V.; PACHAPUR, V. L.; BRAR, S.K.; ARRIAGA, S.; BLAIS, J.F.; RAMIZEZ, A.A. **Effect of the concentration of L-Phenylalanine and lactose on 2-Phenyle-hanol production by whey fermentation using the yeast *kluveromyces marxianus* and *Debaryomyces hansenii* under co-culture mode.** *Bioresource Technology Reports*, v. 18, 2022.

CHEIRSILP, B.; KITCHA, S.; TORPEE, S. **Co-culture of na oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and a microalga *Chlorella vulgaris* for biomass and lipid production using purê and crude glycerol as a sole carbono source.** *Annals of Microbiology*, v. 62, p. 987-993, 2012.

CHEIRSILP, B.; SUWANNARAT, W.; NIYOMDECHA, R. **Mixed culture of oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and microalga *Chlorella vulgaris* for lipid production from industrial wastes and its use as biodiesel feedstock.** *New Biotechnology*, v 28, Ed. 4, p. 362-368, 2011.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). **Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011.** Disponível em < <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2018/01/RESOLU%C3%87%C3%83O-No-430-DE-13-DE-MAIO-DE-2011.pdf>>. Acesso em 18 de jan. 2023.

CRUZ, S.H.; CASSIO, F.; LEÃO, C.; ERNANDES, J.R.; **The effect of structural complexity of nitrogen source on the ammonium transport in *Saccharomyces cerevisiae*.** Pós-Graduação em Biotecnologia. Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química, Instituto de Química, UNESP, Araraquara, São Paulo.

DERNER, R. B.; **Sistemas de cultivos de microalgas.** Laguna, Santa Catarina, 2017.

DEMIRBAS, A.; DEMIRBAS, F. M. **Algae energy: Algae as a new source of biodiesel.** Reino Unido, Londres: Springer, 2010.

DIAS, C.; SANTOS, J.; REIS, A.; SILVA, T. L.; **Yeast and microalgal symbiotic cultures using low-cost substrates for lipid production.** *Bioresource Technology*, v.7, 2019.

DIOGÉNES, B.C; CARMO, S. K. S. **Desempenho de *Saccharomyces cerevisiae* ao estresse ácido no processo de fermentação alcoólica.** *Research, Society and Development*, v. 10, n. 10, 2021.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Milk and milk products.** Rome, 2022. Disponível em: [www.fao.org/cb9427en\\_milk](http://www.fao.org/cb9427en_milk). Acesso em 18 de out. 2022.

FERRAZ, K. C. R. **Uso agrícola de soro de leite: efeitos no solo, na emissão de CO<sub>2</sub>, na biomassa microbiana do solo e na produção vegetal.** *Magister Scientiae* – Programa de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas. Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, 2021.

Fungos. Instituto de Ciências Médicas – Universidade de São Paulo, USP. Disponível em: [http://www.icb.usp.br/~crpmicol/materiais/apostila\\_fungos.pdf](http://www.icb.usp.br/~crpmicol/materiais/apostila_fungos.pdf). Acesso em 19/10/2022

HONGYANG, S.; YALEI, Z.; CHUNMIN, Z.; XUEFEI, Z.; JINPENG, L. **Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in soybean processing wastewater**. A review: *Bioresource Technology*, v. 102, p. 9884-9890, 2011.

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

JI, MK.; KIM, H.C.; SAPIREDDY, V.R. *et al.* **Simultaneous nutrient removal and lipid production from pretreated piggery wastewater by *Chlorella vulgaris* YSW-04**. *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 97, p. 2701–2710, 2013.

KARIM, A.; ISLAM, M. A.; KHALID, Z.B.; YOUSUF, A.; KHAN, M.R.; FAIZAL, C. K. M.; **Microbial lipid accumulation through bioremediation of palm oil mill effluent using a yeast-bacteria co-culture**. *Renewable Energy*, v.176, p. 106-114, 2021.

LEGRAMANTI, G. **Biorremediação é uma das técnicas utilizadas com eficácia no tratamento de efluentes**. Tratamento de resíduos – Revista Leite. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, p. 28, mar. /abr., 2020. Disponível em: <https://enzilimp.com.br/5502-2>. Acesso em: 19 de out. 2022.

LEIFELD, V. **Tratamentos clássicos de precipitação de proteínas aplicados a soro de leite visando decréscimo do potencial contaminante do efluente**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2014.

LI, H.; ZHONG, Y. LU, Q.; ZHANG, X. WANG, Q.; LIU, H. DIAO, Z.; YAO, C.; LIU, H. **Co-cultivation of *Rhodotorula glutinis* and *Chlorella pyrenoidosa* to improve nutrient removal and protein content by their synergistic relationship**. *Royal Society Of Chemistry*, v. 9, p.14331-14342, 2019.

LING, J.; NIP, S.; CHEOK, W.L.; TOLEDO, R.A.; SHIM, H. **Lipid production by a mixed culture of oleaginous yeast and microalga from distillery and domestic mixed wastewater**. A review: *Bioresource Technology*, v.173, p. 132-139, 2014.

LIM, J.; KIM, T.; HWANG, S. **Treatment of fish-processing wastewater by co-culture of *Candida rugopelliculosa* and *Brachionus plicatilis***. *Water Research*, v.37, p.2228-2232, 2003.

LUCENA, D. V. **Avaliação do desempenho de lagoas de polimento em fluxo contínuo e semicontínuo no pós-tratamento de efluentes de reator UASB**. Campina Grande: Universidade Estadual da Paraíba, 2016. (Trabalho de conclusão de curso).

MAGANHA, M. F. B. **Guia técnico ambiental da indústria de produtos lácteos**. São Paulo: CETESB, 2008, 95 p. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br>. Acesso em 08 de out. 2022.

MAPA, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Mapa do leite: Políticas públicas e privadas**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite>. Acesso em 05 de out. 2022.

MILLEDGE, J.J.; **Commercial application of microalgae other than as biofuels: a brief review**. *Reviews in Environmental Science and Bio/Tecnology*, v. 10, p.31-41, 2011.

ORTEGA, J. A. S. **Avaliação do desempenho da microalga *Tetradismus obliquus* como fonte para a produção de biodiesel**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Sorocaba, 2021.

PACHECO, T. F. **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

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

PEÑA, A.; SÁNCHEZ, N. S.; ÁLVAREZ, H.; CALAHORRA, M.; RAMÍREZ, J. **Effects of high medium pH on growth, metabolic and transport in *Saccharomyces cerevisiae***. *FEMS Yeast Research*, v. 15, Ed. 2, 2015.

PEREIRA, A.B.C. **Microalgas biorremediadoras: tratamentos biológicos e viabilidade de fermentação na produção de bioetanol**. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Energias Renováveis. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.

QIN, L.; LIU, L.; WANG, Z.; CHEN, W.; WEI, D. **Efficient resource recycling from liquid digestate by microalga-yeast mixed culture and the assessment of key gene transcription related to nitrogen assimilation in microalgae**. *Bioresource Technology*, v. 264, p.90-97, 2018.

RIVAS, J. K.S.; ALTAMIRANO, R.H.; CERVANTES, V. Y.M.; GÓMEZ, E.J.B.; CHAIREZ, I. **Biodiesel production, through intensification and profitable distribution of fatty acid methyl esters by a microalgae-yeast co-culture, isolated from wastewater as a function of the nutrients composition of the culture media**. *Fuel*, v. 280, 2020.

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

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WAERBURY, J. B.; HERDMAN, M.; STAINER, R.

**V. Genetic assignment, strain histories and properties of pure culture of cyanobacteria**.

*J Gen Microbiol*, v. 111, p. 1–61, 1979

RODRIGUES, H.D.P.; **Potencial Biossorbitivo e biodegradativo das células de “*Saccharomyces cerevisiae*” livre e imobilizadas em alginato de cálcio na remoção de corantes têxteis**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências

Biológicas Microbiologia Aplicada. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2010.

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

SCHMITZ, R.; MAGRO, C.D.; COLLA, L.M. **Environmental Applications of microalgae.** Revista CIATEC – UPF, vol 4(1), p.p. 48-60, 2012.

SCHUSTER, A. A; GONÇALVES, C.V. **Fertirrigação em eucalipto com efluente tratado de indústria de laticínios.** Curso técnico em Química. Centro de Educação Profissional Univates, Lajeado, 2015.

SINGH, R.N.; SHARMA, S. **Development of suitable photobioreactor for algae production – A review.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, v.16, p.2347-2353, 2012.

TAN, K. A.; LALUNG, J.; WIJAYA, D.; ISMAIL, N. OMAR, W. M. W; WABAIDUR, S. M.; SIDDIQUI, M. R.; ALAM, M. RAFATULLAH, M. **Removal of Nutrients by Using Green Microalgae from Lab-Scale Treated Palm Oil Mill Effluent.** Fermentation, v. 8, Ed. 11, p. 658, 2022.

VIDAL, G., CARVALHO, A.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. **Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters.** Bioresource Technology, 74 (3), p. 231-239.

VIEIRA, R. C.; SILVA, C. F. F.; SILVA, L. O. M.; ALMEIDA, R. M. R. G.; CARVALHO, F. O.; SILVA, M. C. S. **Kinetic modelling of ethanolic fermented tomato must (*Lycopersicon esculentum* Mill) in batch system: influence of sugar content in the chaptalization step and inoculum concentration.** Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis, 2020.

WALLS, L.E.; ORTA, S.B.V; FRASCAB, E.R.; LEARYA, P.; NOGUEZ, I. Y. LEDESMA, M.T.O. **Non-sterile heterotrophic cultivation of native wastewater yeast and microalgae for integrated municipal wastewater treatment and bioethanol production.** Biochemical Engineering Journal, v.151, 2019.

WESSLING, C.S. **Avaliação comparativa entre os procedimentos técnicos, legais e administrativos de outorga para lançamento de efluentes em rios adotados no Brasil e Alemanha.** Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente Urbano e Industrial. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

XUE, F.; MIAO, J.; ZHANG, X.; TAN, T. **A new strategy for lipid production by mix cultivation of *Spirulina platensis* and *Rhodotorula glutinis*.** Applied Biochemistry and Biotechnology, 160, p. 498-503, 2010.

YAAKOB, M. A.; MOHAMED, R. M. S. R.; AL- GHEETHI, A.; GOKARE, R. A.; AMBATI, R. R. **Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid and fatty acid production: na overview.** Cells, v.10, Ed. 2, p. 393, 2021.

YEN, H. W.; CHEN, P.W.; CHEN L. J. **The synergistic effects for the co-cultivation of oleaginous yeast-Rhodotorula glutinis and microalgae-Scenedesmus obliquus on the biomass and total lipids accumulation.** Bioresource Technology, 184, p. 148-152, 2015.

ZIMERMANN, J.D.F. **Cultivo da microalga *Galdieria sulphuraria* em permeado de soro de leite.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2019.