



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO

JOÃO VICTOR OLIVEIRA NASCIMENTO DA SILVA

**PROCESSO SEMICONTÍNUO DE TRATAMENTO AVANÇADO DO SORO DO
LEITE UTILIZANDO CONSÓRCIO MICROALGA E FUNGO FILAMENTOSO EM
REATOR AERADO**

MACEIÓ – AL
2024

JOÃO VICTOR OLIVEIRA NASCIMENTO DA SILVA

**PROCESSO SEMICONTÍNUO DE TRATAMENTO AVANÇADO DO SORO DO
LEITE UTILIZANDO CONSÓRCIO MICROALGA E FUNGO FILAMENTOSO EM
REATOR AERADO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento da Universidade Federal de Alagoas, como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Recursos Hídricos e Saneamento.

Orientador(a): Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias
Silva

Co-orientadora: Prof.ra Dra. Brígida Maria Villar da
Gama

MACEIÓ – AL
2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

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

- S586p Silva, João Victor Oliveira Nascimento da.
Processo semicontínuo de tratamento avançado do soro do leite utilizando consórcio microalga e fungo filamentoso em reator aerado / João Victor Oliveira Nascimento da Silva. – 2023.
94 f. : il. color.
- Orientador: Carlos Eduardo de Farias Silva.
Co-orientadora: Brígida Maria Villar da Gama.
Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2023.
- Bibliografia: f. 73-92.
Apêndices: f. 93-94.
1. Biorremediação. 2. Consórcio microalga-fungo. 3. Semicontínuo (Tecnologia química). 4. Soro do leite. I. Título.

CDU: 62-932.3



Folha de Aprovação

JOÃO VICTOR OLIVEIRA NASCIMENTO DA SILVA

PROCESSO SEMICONTÍNUO DE TRATAMENTO AVANÇADO DO SORO DO LEITE UTILIZANDO CONSÓRCIO MICROALGA E FUNGO FILAMENTOSO EM REATOR AERADO

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Recursos
Hídricos e Saneamento, Centro de
Tecnologia da Universidade Federal
de Alagoas, como requisito para
obtenção do título de Mestre em
Recursos Hídricos e Saneamento.

Em: 19/03/2024

Documento assinado digitalmente
gov.br CARLOS EDUARDO DE FARIAS SILVA
Data: 19/03/2024 19:45:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
gov.br BRIGIDA MARIA VILLAR DA GAMA
Data: 19/03/2024 22:14:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Brigida Maria Villar da Gama
(Co-orientadora - UFAL)

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br KARINA RIBEIRO SALOMON
Data: 20/03/2024 07:49:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Karina Ribeiro Salomon
(Examinadora Interna – PPGRHS/ CTEC/UFAL)

Documento assinado digitalmente
gov.br GEORGIA NAYANE SILVA BELO GOIS
Data: 19/03/2024 20:15:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Georgia Nayana Silva Belo Gois
(Examinadora Externa à Instituição)

AGRADECIMENTOS

Ao final desse ciclo com desafios impostos do início ao fim, venho por meio desta agradecer aqueles que verdadeiramente contribuíram para o desenvolvimento do presente projeto e na minha construção como pesquisador durante esses dois anos de mestrado.

À minha família, todo meu carinho e apreço pelo que vocês fizeram por mim nesse período de muitas noites em claro e ansiedade com os prazos apertados, por terem depositado confiança mesmo quando eu mesmo não fui capaz de reconhecer os valores e conhecimento que adquiri, por estarem dispostos a me apoiar sempre.

Às minhas parceiras de laboratório e amigas Josimayra, Micaela e Gabi meu mais sincero muito obrigado, mesmo. Vocês foram uma luz no meu caminho percorrido de uma forma que jamais vou conseguir descrever. O apoio de Josi em me guiar diariamente nos erros e acertos, tirar dúvidas, dentre outros auxílios. Quanto Micaela, sou muito grato pelo seu gesto em ceder toda experiência nas análises de Nitrogênio Total durante toda fase laboratorial, minha IC forte e dedicada que tanto se empenhou nas várias horas de digestão e destilação das amostras. E Gabi por toda diversão e distração, momentos de risadas e leveza no que costumamos chamar “plantão de lab”, fora os vários conselhos e apoio de motivação sempre. A vocês meninas, apesar de redundante no texto, meu muito obrigado e espero que esse tenha sido apenas o começo de uma longa trajetória dessa equipe de pesquisa que soube transformar o vínculo de trabalho em vínculo de amizade.

Ao meu orientador Carlos Eduardo e minha coorientadora Brígida, fica meu agradecimento pelas dicas de melhorar cada vez mais o desempenho desse projeto e a confiança no meu trabalho, em motivar a desempenhar um papel de ser capaz de discutir e analisar os resultados e construir meu próprio pensamento crítico tão importante no meio científico que sempre foi meu sonho de estar inserido.

Por fim, querido João Victor Oliveira que enquanto criança sonhava em se divertir e ter orgulho no que iria atuar, você conseguiu o que tanto almejou e batalhou para conseguir. Passou por desafios e fases difíceis como inclusive no exato momento em que escreveu esse presente agradecimento. Sempre se lembre do quão importante foi ser você mesmo, do quão importante foi confiar e que, mesmo após erros e decepções, você teve e foi capaz de se erguer independentemente do quão energicamente negativo as coisas estiveram. Esse é seu momento e saiba que tudo vai ser visto com muito orgulho pelo seu eu do futuro.

RESUMO

Estima-se que até 10 L de soro do leite pode ser gerado por quilo de queijo processado e que há um significativo potencial poluidor em termos de Demanda Química de Oxigênio (DQO) ($44.167\text{--}95.000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Nitrogênio Total (NT) ($790\text{--}2.520\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e Fósforo Total (FT) ($366\text{--}549\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar o tratamento de soro do leite (com ênfase no tratamento terciário) em reator aerado utilizando a simbiose microalga-fungo filamentoso (*Tetrademus obliquus* LCE-01 e o *Cunninghamella echinulata*) em distintas cargas orgânicas e modo de operação (descontínuo e semicontínuo). Os reatores foram operados com taxa de aeração de 1,5 vvm, agitados pneumaticamente, a $30\text{--}35^{\circ}\text{C}$, avaliando-se sob intensidade luminosa de $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. No modo semicontínuo utilizou-se taxas de reposição volumétrica (TRVs) de 40 e 60%. O soro do leite caracterizada previamente possuía valores de DQO $67.014,48\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NT $1.377,05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e FT $625,60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Após o tratamento secundário (principal) biológico, realizado com a co-cultura, obteve-se reduções na ordem de 96,94% para DQO, 97,97% para NT e 95,93% para FT em duas etapas sequenciais e 10 dias totais de operação. Após isso, análises de tratamento avançado utilizando 3 cargas ($C1 > C2 > C3$) com teores na faixa entre $1.176,32\text{--}6.355,60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para DQO, $21,90\text{--}77,32\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NT e $21,95\text{--}52,61\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para FT foram avaliados. Os estudos preliminares, (com relação DQO:N = 50), apontaram limitação de nitrogênio, mesmo com razoável remoção de DQO, NT e FT (mas dentro do exigido pela legislação); o que possibilitou continuar o estudo em diferentes relações DQO:N:P buscando melhores as performances obtidas. Dessa forma, na etapa seguinte foram realizados novos experimentos com ajuste da relação DQO:N para valores de 20, 30 e 40 em cargas orgânicas C2 (teores iniciais para DQO de $2370,46 \pm 26,73$, e NT de $37,78 \pm 1,88$ e FT de $21,95 \pm 0,11\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e C3 (teores iniciais para DQO de $1176,32 \pm 8,91$, NT de $21,97 \pm 0,03$ e FT de $12,32 \pm 0,07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e mostrou-se que de fato havia limitação de nitrogênio na condição anterior, alcançando maiores remoções de DQO e FT, com melhor relação DQO:N entre 20-30. No modo semicontínuo em DQO:N = 20, obteve-se para TRVs de 40 e 60% remoções máximas e iguais a 84,92% para DQO, 99,41% para FT e 84,44% para NT. Apenas a condição com C2 e TRV de 60% que mostrou um residual de NT (devido a suplementação) estando fora do exigido pela legislação, mas para C2 em TRV de 40% e C3 em TRVs de 40 e 60% o processo poderia operar de modo satisfatório atendendo a legislação. Houve produção de lodo microbiano com potencialidade ($1\text{--}2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) e estabilização do pH durante o tratamento (isento de ajuste).

Palavras-chave: Biorremediação, consórcio microalga-fungo, semicontínuo, soro do leite.

ABSTRACT

It is estimated that up to 10 L of whey can be generated per kilogram of processed cheese and that there is a significant polluting potential in terms of Chemical Oxygen Demand (COD) (44.167-95.000 mg·L⁻¹), Total Nitrogen (TN) (790-2.520 mg·L⁻¹) and Total Phosphorus (TP) (366-549 mg·L⁻¹). In this sense, the objective of this work was to evaluate the treatment of whey (with emphasis on tertiary treatment) in an aerated reactor using the microalgae-filamentous fungus symbiosis (*Tetradismus obliquus* LCE-01 and *Cunninghamella echinulata*) in different organic loads and mode of operation (discontinuous and semi-continuous). The reactors were operated with an aeration rate of 1.5 vvm, pneumatically agitated, at 30-35°C, evaluated under a light intensity of 100 μmol·m⁻²·s⁻¹. In semi-continuous mode, volumetric replacement rates - TRVs of 40 and 60% were used. The previously characterized whey had values of COD 67,014.48 mg·L⁻¹, TN 1,377.05 mg·L⁻¹ and TP 625.60 mg·L⁻¹. After the secondary (main) biological treatment, carried out with co-culture, reductions in the order of 96.94% for COD, 97.97% for NT and 95.93% for FT were obtained in two sequential stages and 10 days operating totals. After that, advanced treatment analyzes using 3 loads (C1 > C2 > C3) with levels in the range between 1,176.32- 6,355.60 mg·L⁻¹ for COD, 21.90-77.32 mg·L⁻¹ TN and 21.95-52.61 mg·L⁻¹ for TP were evaluated. Preliminary studies (with COD:N ratio = 50) showed nitrogen limitation, even with reasonable removal of COD, NT and TF (but within what is required by legislation); which made it possible to continue the study in different DQO:N ratios, seeking to improve the performances obtained. Thus, in the next stage, new experiments were carried out with adjustment of the COD:N ratio to values of 20, 30 and 40 in C2 organic loads (initial contents for COD of 2370.46 ± 26.73, and TN of 37.78 ± 1.88 and TP of 21.95 ± 0.11 mg·L⁻¹) and C3 (initial levels for COD of 1176.32 ± 8.91, TN of 21.97 ± 0.03 and TP of 12.32 ± 0.07 mg·L⁻¹) and it was shown that there was indeed nitrogen limitation in the previous condition, achieving greater COD and TP removals, with a better COD:N:P ratio between 20-30. In semi-continuous mode at COD:N = 20, maximum removals were obtained for TRVs of 40 and 60% and equal to 84.92% for COD, 99.41% for TP and 84.44% for TN. Only the condition with C2 and TRV of 60% that showed a residual TN (due to supplementation) being outside that required by legislation, but for C2 at TRV of 40% and C3 at TRVs of 40 and 60% the process could operate in satisfactory manner in compliance with legislation. There was production of microbial sludge with potential (1-2 g·L⁻¹) and stabilization of pH during treatment (exempt from adjustment).

Keywords: Bioremediation, microalgae-fungus consortium, semicontinuous, whey.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais fontes de geração de efluentes nas usinas de laticínios.....	28
Figura 2 – Classificação dos fungos, pseudofungos e organismos plasmodiais década de 1990	33
Figura 3 – Classificação dos fungos, pseudofungos e organismos plasmodiais 2001/2008 ...	33
Figura 4 – Ciclo reprodutivo dos Zygomycotas	35
Figura 5 – Agregação hifas fúngicas com a biomassa de microalgas	40
Figura 6 – Esquematização do processo de reposição volumétrica em modo semicontínuo ..	42
Figura 7 – Microscopia da microalga <i>Tetrademus sp.</i> LCE-01 (A) e do fungo filamentoso <i>Cunninghamella echinulata</i> (B) com um aumento de 100x.....	46
Figura 8 – Meios de manutenção para a microalga (A) e o fungo filamentoso (B)	46
Figura 9 – Modelo adotado para simulação de reator tubular aerado	47
Figura 10 – Esquematização das etapas experimentais adotadas	48
Figura 11 – Formação de <i>pellets</i> nos sistemas montados (A) e microscopia (40x) (B).....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características físico-químicas de diferentes tipos de efluentes produzidos na indústria de laticínios.....	14
Tabela 2 – Características dos tipos de soro do leite	15
Tabela 3 – Quantificação de parâmetros físico-químicos típicos das proteínas do soro do leite	16
Tabela 4 – Distribuição nutricional acerca das divisões algais.....	22
Tabela 5 – Composição química da parede celular de fungos do Reino Fungi.....	36
Tabela 6 – Padrões de lançamentos determinados em múltiplas legislações/normativas	44
Tabela 7 – Caracterização físico-química do soro do leite.....	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Eficiência de remoção de DQO sob processo combinado EC/EO	18
Gráfico 2 – Curvas de crescimento celular e a de redução do fosfato no meio.....	30
Gráfico 3 – Curva de crescimento de <i>Tetrademus obliquus</i> sob distintas condições	31
Gráfico 4 – Remoção de açúcares totais e DQO em SW por fermentação de <i>C. echinulata</i> ..	39
Gráfico 5 – Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga-fungo na remoção de DQO do soro do leite durante o tratamento secundário.....	53
Gráfico 6 – Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga-fungo na remoção de NT e FT do soro do leite durante o tratamento secundário	53
Gráfico 7 – Desempenho do tratamento terciário em modo descontínuo do efluente do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo na remoção de DQO	55
Gráfico 8 – Desempenho do tratamento terciário em modo descontínuo do efluente do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo na remoção de NT e FT	56
Gráfico 9 – Desempenho em semicontínuo pelo consórcio microalga-fungo na remoção de DQO da carga C3. S.C - Semicontínuo	58
Gráfico 10 – Desempenho em semicontínuo pelo consórcio microalga-fungo na remoção de NT da carga C3. S.C - Semicontínuo	59
Gráfico 11 – Desempenho em semicontínuo pelo consórcio microalga-fungo na remoção de FT da carga C3. S.C - Semicontínuo	60
Gráfico 12 – Desempenho de eficiência na remoção de DQO para relações DQO:N estudadas	61
Gráfico 13 – Desempenho de eficiência na remoção de NT e FT para relações DQO:N estudadas para C3	62
Gráfico 14 – Desempenho de eficiência na remoção de NT e FT para relações DQO:N estudadas para C2	63
Gráfico 15 – Desempenho do tratamento terciário em semicontínuo na remoção de DQO para C2 e C3 para TRVs de 40 e 60% e relação DQO:N igual a 20. S.C - Semicontínuo.....	65
Gráfico 16 – Desempenho do tratamento terciário em semicontínuo na remoção de NT para C2 e C3 para TRVs de 40 e 60% e relação DQO:N igual a 20. S.C. - Semicontínuo	66
Gráfico 17 – Desempenho do tratamento terciário em semicontínuo na remoção de FT para C2 e C3 para TRVs de 40 e 60% e relação DQO:N igual a 20. S.C. - Semicontínuo	67
Gráfico 18 – Produção de biomassa em sistema microalga-fungo para C1, C2 e C3 em DQO:N = 50 (A) e em várias relações de DQO:N (B) em modo descontínuo	69
Gráfico 19 – Produção de lodo microbiano em sistema microalga-fungo para C3 em DQO:N = 50 (A), C3 em DQO:N = 20 (B) e C2 em DQO:N = 20 (C) em modo semicontínuo.....	69
Gráfico 20 – Comportamento do pH do sistema utilizando consórcio microalga-fungo em modo de operação descontínuo para carga C2 (A) e C3 (B)	70
Gráfico 21 – Comportamento do pH no sistema semicontínuo para C3 em DQO:N = 50 (A), C3 em DQO:N = 20 (B) e C2 em DQO:N = 20	71

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% p/v – % Peso/Volume

% v/v – % Volume/Volume

(NH₄)₂SO₄ – Sulfato de Amônia

(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O – Mobilidato de Amônio

Abs – Absorbância

AOAC – *Association of Official Analytical Chemists*

BBM – *Bold's Basal Medium*

BDA – Batata Dextrose Agar

BG-11 – *Blue-Green Medium*

C1 – Carga orgânica

C2 – Carga orgânica

C3 – Carga orgânica

CaCl₂ – Cloreto de Cálcio

CE – Comissão Europeia

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente

CONEMA – Conselho Estadual do Meio Ambiente

COPAN-CERH/MG – Conselho Estadual de Política Ambiental e o Conselho Estadual de Recursos Hídricos de Minas Gerais

COT – Carbono Orgânico Total

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO – Demanda Química de Oxigênio

e.p. – Equivalente de População

EC – Eletrocoagulação

EMPRA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EO – Eletrooxidação

EPS – *Extracellular Polymeric Substance*

FAMES – *Fatty Acid Methyl Esters*

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

FT – Fósforo Total

g·L⁻¹ – grama por litro

H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico

HCl – Ácido Clorídrico

HgSO₄ – Sulfato de Mercúrio
HOOC C₆H₄ COOK – Bifatalato de potássio
IAL – Instituto Adolfo Lutz
K(SbO)C₄H₄O₆ · 1/2H₂O – Tartarato Misto de Antimônio e Potássio Hemihidratato
K₂Cr₂O₇ – Dicromato de Potássio
K₂HPO₄ – Fosfato de Potássio Dibásico Anidro
LABIO – Laboratório de Bioprocessos/UFAL
LTBA – Laboratório de Tecnologia de Bebida e Alimentos/UFAL
M – Molaridade
mg · L⁻¹ – miligrama por litro
N – Normalidade
Na₂CO₃ – Carbonato de Sódio
NaOH – Hidróxido de Sódio
NH⁴⁺ – Íon Amônia
NH₄NO₃ – Nitrato de Amônio
NKT – Nitrogênio de Kjeldahl Total
nm – Nanômetro
NPK – Nitrogênio, Fósforo e Potássio
NT – Nitrogênio Total
OECD – *Organization for Economic Co-operation and Development*
PA – Para Análise
PES – Polietersulfona
pH – potencial hidrogeniônico
PM – Peso Molecular
PO₄³⁺ – Íon Fosfato
POME – *Palm Oil Mill Effluent*
PS – Peso Celular Seco
rpm – Rotação por Minuto
SC – Semicontínuo
TRV – Taxa de Reposição Volumétrica
UE – União Europeia
vvm – Ventilação Voluntária Máxima
μmol fótons · m⁻² · s⁻¹ – Micromoles de fótons por metro ao quadrado por segundo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Considerações iniciais	11
1.2 Objetivos	13
1.2.1 Objetivo Geral	13
1.2.2 Objetivos Específicos	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Indústria do leite	14
2.1.1 Soro do Leite	15
2.1.2 Métodos de Tratamento do Soro do Leite	16
2.2 Microalgas	18
2.2.1 Características biológicas da Divisão Chlorophyta	20
2.2.2 Aspectos nutricionais e ambientais	21
2.2.3 Microalgas no tratamento de efluentes	26
2.2.4 <i>Tetrademus obliquus</i> e o tratamento de efluente	29
2.3 Fungos filamentosos	31
2.3.1 Características biológicas do Filo Zygomycota	34
2.3.2 Aspectos nutricionais e ambientais dos fungos	35
2.3.3 Fungos filamentosos no tratamento de efluentes	37
2.3.4 <i>Cunninghamella echinulata</i> no tratamento de efluentes	38
2.4 Co-cultivo de fungos filamentosos e microalgas no tratamento de efluentes	39
2.5 Sistema de tratamento semicontínuo	41
2.6 Legislação ambiental referente ao lançamento de efluentes em corpos hídricos	43
3 MATERIAIS E MÉTODOS	45
3.1 Efluente Bruto	45
3.2 Caracterização do Efluente Bruto e Tratado	45
3.3 Espécies de Fungo Filamentoso e Microalga	46
3.4 Sistema de Tratamento	47
3.5 Experimentos Realizados	47
3.5.1 Etapa 1 - Avaliação do tratamento secundário do soro do leite por consórcio microalga-fungo sob modo descontínuo	48
3.5.2 Etapa 2 - Tratamento terciário pelo consórcio microalga-fungo do efluente do soro do leite em modo descontínuo	48
3.5.3 Etapa 3 - Tratamento terciário em modo semicontínuo do efluente do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo	49
3.5.4 Etapa 4 - Otimização da relação DQO:N:P no tratamento terciário do efluente do soro do leite em modo descontínuo	49
3.5.5 Etapa 5 - Tratamento terciário do efluente do soro do leite sob modo semicontínuo em condições otimizadas de relação DQO:N:P	49
3.6 Análises realizadas	49
3.6.1 Peso seco celular	50
3.6.2 Demanda química de oxigênio – DQO (Método de digestão com dicromato)	50
3.6.3 Nitrogênio Total (método de Kjeldahl)	50
3.6.4 Fósforo total (Método do ácido ascórbico)	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 Avaliação do tratamento secundário do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo sob modo descontínuo	52

4.2 Avaliação do tratamento terciário em modo descontínuo pelo consórcio microalga-fungo	55
4.3 Avaliação do tratamento terciário em modo semicontínuo do efluente do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo.....	58
4.4 Otimização da relação DQO:N:P no tratamento terciário do efluente do soro do leite em modo descontínuo	60
4.5 Tratamento terciário do efluente do soro do leite sob modo semicontínuo em condição otimizada de relação DQO:N:P	64
4.6 Produção de biomassa e comportamento do pH no sistema.....	68
5 CONCLUSÃO.....	72
REFERÊNCIAS	73
APÊNDICE A – Quadro de resumo dos ensaios realizados	93
APÊNDICE B – Curva de calibração (Demanda Química de Oxigênio – DQO).....	94
APÊNDICE C – Curva de calibração (Fósforo Total – FT)	94

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações iniciais

Conforme avanços no setor de laticínios, esfera de alta importância para o agronegócio assim como para a alimentação humana, desafios quanto aplicação da gestão ambiental em sistemas de descartes de subprodutos/efluentes tomam atenção da sociedade científica. O soro do leite, principal subproduto obtido na produção de queijo, corresponde a fração aquosa do leite que perdura após a separação da coalhada (caseína do leite) da porção sólida resultante da coagulação do leite por enzimas ácidas ou proteolíticas, e detém significativo potencial poluidor em termos entre 44.167 a 95.000 mg·L⁻¹ para Demanda Química de Oxigênio (DQO), 790 a 2.520 mg·L⁻¹ para Nitrogênio Total (NT) e 366 a 549 mg·L⁻¹ para Fósforo Total (FT) devido a ampla carga orgânica presente em sua composição, principalmente, a presença de lactose e proteínas (Kareb; Aider, 2019; Panghal *et al.*, 2018; Prazeres *et al.*, 2019; Elia *et al.*, 2023; Nazos *et al.*, 2023).

Apesar da sua utilização na produção de ricota, bebidas lácteas, fonte de minerais no fortalecimento de carnes processadas, concentrados de permeado e proteínas ou até ração animal (principalmente para granjas de suínos), uma parcela substancial do soro do leite geralmente é descartada em corpos hídricos muitas vezes sem qualquer tipo de tratamento, quantificado ordinariamente em cerca de 50% do soro produzido em todo mundo (especialmente soro ácido) (Valta *et al.*, 2017; Svalov, 2017; Arshad *et al.*, 2022).

Além disso, o soro do leite é responsável por cerca de 85-95% do volume de leite e retém aproximadamente 55% de seus nutrientes, ou seja, lactose (4,5-5,0% p/v), proteínas solúveis (0,6-0,8% p/v), lipídios (0,4-0,5% p/v), sais minerais (8-10% de extrato seco) e outros menores componentes. Diante disso, os desafios no gerenciamento desse subproduto vêm causando impactos ambientais por intermédio do grande volume gerado em todo o mundo equivalendo a cerca de 852 milhões de toneladas em 2019 com registros de aumento produtivo em países como Brasil, Índia e Paquistão (FAO, 2019), e 930 milhões de toneladas no levantamento 2022/2023 (0,6% a mais quando comparado ano anterior) (FAO, 2023). Salienta-se ainda com base nos argumentos de Sharma *et al.* (2018) e Mano *et al.* (2020) que a demanda de produtos do leite coagulado quando analisados entre 2018 e 2023 triplicou ocasionando assim na ampliação de 1-2% no volume de soro do leite gerado.

Em decorrência dos fatos expostos, a conversão da lactose em outras moléculas de valor agregado ou sua hidrólise em açúcares simples indicavam, conforme explicita Bódalo *et al.* (1991) como melhores soluções para a remoção da lactose desse subproduto lácteo. Em

contrapartida, avanços nos estudos voltados para o tratamento de efluentes laticínios considerando suas respectivas características quanto a alta carga orgânica (proteínas, gorduras, lipídios e carboidratos) apontam a alta eficácia de tratamentos biológicos com digestão anaeróbica visto sua capacidade de estabilização biodegradável de resíduos equivalente a 80-90% como exemplo do uso de reatores anaeróbicos atrelado a fotobiorreatores de microalgas (Bella; Rao, 2021; Baral *et al.*, 2020).

Nesse sentido, o tratamento biológico de efluentes é um dos métodos mais utilizados para o soro do leite, seja aeróbio ou anaeróbio, possibilitando sua inserção no processo com a aplicação de microalgas dada capacidade mixotrófica (autotrófica e heterotrófica) conseguindo assimilar compostos orgânicos, além de compostos nitrogenados e fosfatos com eficiência (Baral *et al.*, 2020). Técnicas de remediação estruturadas no uso de processos biológicos visando a degradação, conversão e/ou remoção de poluentes em matrizes ambientais como a biorremediação fornecem uma alternativa barata e eficiente para tecnologias de remediação atuais para combater os efeitos nocivos da poluição (Singh; Gupta, 2016; Zhou *et al.*, 2022).

Como mencionado anteriormente, o soro do leite detém uma enorme carga poluidora, e um processo com apenas um estágio dificilmente alcança os padrões para lançamento necessários que, por exemplo, pela norma estabelecida pela União Européia (UE) se situariam para DQO de $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, nitrogênio total de $10\text{-}15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e fósforo total de $1\text{-}2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (dependente da população equivalente) (Diretiva UE 1998/15/CE, 1998). Nesse sentido, o tratamento secundário ou principal em um ou mais estágios é utilizado para abatimento mais significativo dos poluentes enquanto o tratamento terciário ou avançado (também pode ser em uma ou mais etapas) seria responsável pelo polimento para remoção dos teores residuais de contaminantes de forma a alcançar os padrões de lançamento exigidos. As microalgas são muito utilizadas no tratamento terciário de efluentes principalmente por serem potentes na assimilação de nitrogênio e fósforo (Pires *et al.*, 2022; Zonfa *et al.*, 2023; El-Bestawy *et al.*, 2023).

Segundo Ahmad *et al.* (2021) e Zhou *et al.* (2022), os tratamentos de águas residuais à base de microalgas promovem a biorremediação de poluentes relacionados a DQO, metais pesados e contaminantes emergentes, remoção e recuperação de nutrientes como nitrogênio e fósforo total, e recuperação de água e reutilização do meio de cultura. Dessa forma o potencial das microalgas atribui a esses métodos relevância como uma das tecnologias mais adequadas. Em paralelo, os fungos filamentosos apresentam grande potencial na degradação de matéria orgânica e no acúmulo e recuperação de fósforo (Barnharst; Rajendran; Hu, 2018). Logo a associação simbiótica deles pode potencializar o tratamento.

Salienta-se ainda a interação microalga-fungo como uma relação simbiótica natural, possibilitando que as espécies coexistam e resistam a situações ambientais diversas por meio do seguinte sistema: os fungos emitem dióxido de carbono ao meio (seres heterotróficos) enquanto as algas consomem o dióxido de carbono e emitem oxigênio utilizado para o desenvolvimento dos fungos (Honda; Vilegas, 1999; Quirk *et al.*, 2015).

Quando aplicado em sistemas de tratamento operados sob modo semicontínuo, pode-se destacar o ganho de vantagens relativos ao aumento na produtividade de biomassa conforme observado por Yang *et al.* (2017), Tan *et al.* (2018) e Wang *et al.* (2022), com consequente purificação e melhorias no processo de remoção dos poluentes inseridos no meio. Além disso, os mesmos constataram também a realização de grandes quantidades de ciclos de acordo com a taxa de reposição volumétrica adotada sem ocasionar em significativos impactos por exemplo nos lipídios contidos nas microalgas e ocorrência de aumento em 3 vezes no teor de proteína EPS (*Extracellular Polymeric Substance*) no caso da aplicação da *Chlorella sp.*

Mediante ao exposto, sabendo que o tratamento de efluentes com microalgas pode ser potencializada com outros microrganismos como os fungos, e visando uma viabilidade técnica mais eficiente com consequente complementação da capacidade degradativa de ambas as espécies, o objetivo desse trabalho é avaliar o tratamento de soro do leite em reator tubular de coluna de bolhas utilizando a simbiose microalga-fungo em modo semicontínuo.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o tratamento avançado de soro do leite em reator tubular de coluna de bolhas utilizando a simbiose microalga *Tetrademus obliquus* e o fungo filamentoso *Cunninghamella echinulata* avaliando-se principalmente taxas de remoção dos contaminantes em modo semicontínuo.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Verificar a capacidade de remoção de DQO, NT e FT pela simbiose microalga-fungo e formação de biomassa microbiana no sistema em diferentes cargas orgânicas;
- Estudar a relação DQO:N durante o processo de tratamento;
- Aplicar o sistema semicontínuo e verificar a melhor taxa de reposição volumétrica e tempo de detenção hidráulico utilizado;
- Verificar o comportamento de pH durante o período de tratamento;
- Analisar a viabilidade técnica do sistema de tratamento avaliado.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Indústria do leite

Definido como um dos principais setores industriais dos países emergentes, a indústria de laticínios encontra-se concentrado na operação de coleta e transformação de leite cru em vários produtos pasteurizados e condensados como queijo cottage, iogurte, creme, produtos à base de manteiga, bebidas, lactose, soro de leite em pó e vários tipos de sobremesas originando múltiplos efluentes com alta capacidade contaminante como resíduos de reagente utilizado na limpeza e operações de maquinários, sólidos orgânicos suspensos e dissolvidos, resíduos de produtos como soro de leite permeado, óleos e graxas, leite perdido devido a problemas tecnológicos e operacionais (Bella, Rao; 2023).

Por conseguinte, apresentando um alto volume de efluentes resultante de seus processos juntamente com o aumento gradativo na demanda de produtos lácteos estimando taxa de produção igual a 1,6% até 2029 alcançando 981 milhões de toneladas de resíduos variando suas características de acordo com o tipo de produto gerado conforme exposto na Tabela 1 (Stasinakis *et al.*, 2022; OECD Publishing, 2019).

Tabela 1 – Características físico-químicas de diferentes tipos de efluentes produzidos na indústria de laticínios

Tipo de Resíduo Lácteo	pH	DBO (mg·L ⁻¹)	DQO (mg·L ⁻¹)	Fósforo (mg·L ⁻¹)	Nitrogênio (mg·L ⁻¹)
Processamento de Leite	4,0-7,0	3000-5000	5000-10000	50-70	20-150 (NKT)
	5,78*	1860*	3445*	35*	108* (NT)
Efluente de Laticínios Crus	5,5-7,5	350-600	1500-3000	-	-
	6,74	860	6300	21	98 (NT)
	6,5-6,7	11000-11100	13050-13060	12,63-13,93	68-70 (NKT)
Processamento de Soro de Leite	4,46*	40000*	60000*	-	-
	4,9*	37710*	68600*	500*	1120* (NKT)
Processamento de Queijo	6,12*	-	9321*	228*	810* (NKT)
	6,2-11,3*	565-5722	785-7619	-	-
	4,45	-	65700	53	420 (NT)
Efluente de Sorvete	6,96*	-	4935*	-	-
	4,22-9,79	-	7312-10418	32-43	145-165 (NKT)
	5,2*	2450*	5200*	14*	60* (NKT)
Água de Processamento de Iogurte e Leitelho	-	2000-10000	2000-10000	-	40-65 (NT)

* Os dados relatados são valores médios

DBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio

NT: Nitrogênio Total

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

Fonte: Adaptado de Elia *et al.*, 2023.

Vale ressaltar que apesar do principal resíduo da indústria de laticínios (soro do leite) ter a possibilidade de aproveitamento para formação de produtos como ricota ou ração animal, a ocorrência de bioresíduos secundários do soro do leite com a eliminação de produtos residuais agora proibido por meios tradicionais pela União Europeia (UE) e nacional legislação (Isipato, 2021).

2.1.1 Soro do Leite

Caracterizado como subproduto da fabricação de queijo, caseína e iogurte constituída da combinação de proteínas de estruturas esféricas distribuição uniforme de grupos não polares, polares e carregados, condicionando dessa forma a valorização intrínseca do fracionamento de componente do soro do leite como a lactose, proteínas e minerais lácteos (Dinika *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2023).

Salienta-se ainda a classificação baseada no padrão de coagulação do leite condicionando assim distintas composições nutricionais e meios de produção como exposto na Tabela 2:

- ❖ **Soro do Leite Ácido:** produto da coagulação por fermentação da lactose em ácido láctico ou através da adição de ácido durante a produção de caseína ácida;
- ❖ **Soro do Leite Doce:** Também identificado como soro do queijo, corresponde ao produto da coagulação do coalho durante a fabricação do queijo.

Tabela 2 – Características dos tipos de soro do leite

Tipo	Proteína (g·L⁻¹)	Lactose (g·L⁻¹)	Minerais (g·L⁻¹)	pH	DBO (g·L⁻¹)	DQO (g·L⁻¹)
Soro do Leite Ácido	6 – 8	44 – 46	4,3 – 7,2	4,3 < 5,6	52 – 62	35 – 51
Soro do Leite Doce	6 – 10	46 – 52	2,5 – 4,7	5,6 – 7	40 – 120	27 – 60

Fonte: Mulc-ahy, 2017; Guo e Wang, 2019; Stout e Drake, 2019; Tallapragada e Rayavarapu, 2019

Com base nos argumentos de Dinika *et al.* (2020), proteínas do soro β -lactoglobulina (β -Lg $\pm$ 50%), α -lactalbumina (α -La $\pm$ 20%), imunoglobulina ($\pm$ 10%), albumina sérica (SA $\pm$ 10%), lactoferrina (<3%), lactoperoxidase e enzimas (cerca de 60), além de outros componentes proteicos, como glicomacropéptídeos ou caseína macropéptídeos dispostas sobre concentrações médias como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Quantificação de parâmetros físico-químicos típicos das proteínas do soro do leite

Proteínas	Concentrações (g·L ⁻¹)	Peso Molecular (kDa)
β -lactoglobulina	3-4	18,4
α -lactalbumina	1,5	14,2
Albumina de Soro Bovino	0,3 – 0,6	69
Imunoglobinas (IgG, IgA, IgM)	0,6 – 0,9	150 – 1000
Lactoperoxidase	0,006	89
Lactoferrina	0,05	78
Protease-peplone	0,5	4 – 20
Caseína macropeptídeo	-	7

Fonte: Adaptado de Santos *et al.*, 2022.

2.1.2 Métodos de Tratamento do Soro do Leite

Dada complexa mistura de componentes inseridos no soro do leite em altas concentrações, múltiplos desafios encontram-se no tratamento das águas residuárias da indústria de laticínios como a redução de DBO e DQO além de contaminantes com potenciais efeitos adversos à saúde (antimicrobianos, antibióticos e hormônios usados na produção animal) (Sarkar *et al.*, 2006; Priya, Radha, 2017; Cheng *et al.*, 2018).

Remetendo a parte da mistura relativo a nutrientes inorgânicos, gorduras, óleos e sólidos suspensos e dissolvidos, de acordo com Chen *et al.* (2018), o soro do leite detém de três rotas para mecanismos de utilização sendo elas:

❖ **Conversão direta de soro de leite:**

Possibilidade de produção de queijo e bebidas a base do soro do leite (mercado limitado) ou remoção de sais para produção de soro pós desmineralizado D40 (40% de remoção por nanofiltração), D70 (70% de remoção por eletrodialise) e D90 (90% de remoção por troca iônica).

❖ **Conversão biológica e química em eletricidade, biogás ou bioquímicos:**

Utilização do conteúdo orgânico do soro do leite para produção de biogás (metano por exemplo) por intermédio de processos de digestão anaeróbica, e bioquímicos por intermédio da fermentação ou da reação da lactose com uréia ou amônia gerando respectivamente etanol e ácido láctico ou lactosil uréia e lactato de amônio.

❖ **Fracionamento de componentes para recuperar produtos de valor agregado:**

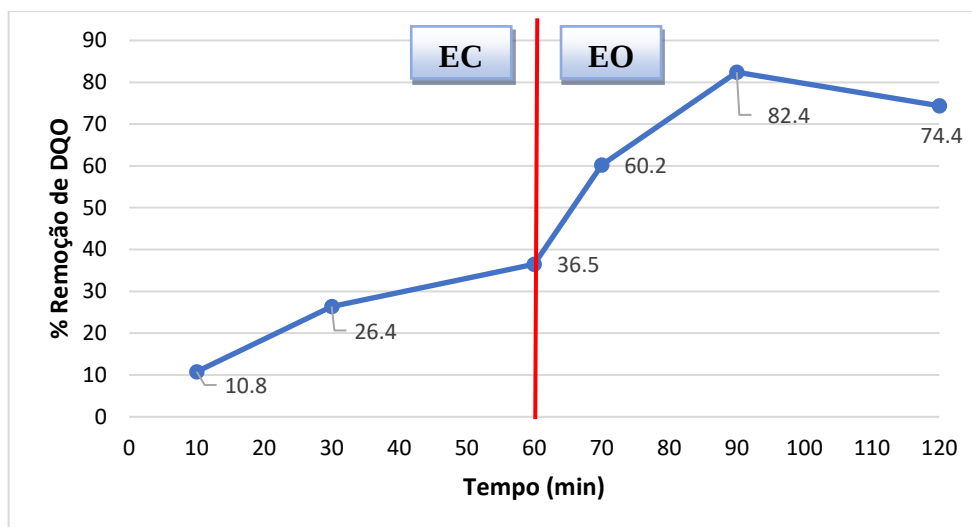
Exemplificando quanto a lactose, o processo de fracionamento é estabelecido por ultrafiltração e a nanofiltração com geração de solução concentrada de lactose,

seguido de processos de evaporação, cristalização e secagem para produção de lactose em pó.

Sendo assim, pode-se afirmar a utilização de métodos convencionais e não convencionais desde métodos biológicos (sistemas aeróbicos, anaeróbicos e *wetland*/zona úmida) assim como métodos físico-químicos para remoção de matérias orgânicas coloidais com a utilização de reagentes (coagulação-floculação, adsorção, processo de membrana) (Bella; Rao, 2023).

Como exemplos dos tipos de métodos, tem o tratamento biológico utilizado por Daneshvar *et al.* (2018) que realizaram estudos acerca da ação das microalgas *Scenedesmus quadricauda* (água doce) e *Tetraselmis suecica* (água marinha) no tratamento de efluentes de laticínios em fotobiorreatores configurados com pH ajustado em 7, intensidade de luminosidade de $110 \mu\text{mol f\acute{o}tons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, aeração por injeção de ar comprimido (0,04% de CO_2) e período de incubação de 12 dias. Foi constatado resultados de produtividade de biomassa respectivamente de 0,47 e 0,61 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ acrescido da remoção de tetraciclina em 295,34 e 56,25 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Pontua-se também computação de eficiência de remoção para *S. quadricauda* equivalente a 86,21% de nitrogênio total (NT), 89,83% de fosfato (PO_4^{3-}) e 64,47% carbono orgânico total (COT); e para *T. suecica* valores de 44,92% de NT, 42,18% de PO_4^{3-} e 40,16% de COT sendo as concentrações iniciais dos respectivos poluentes analisados estabelecidas na ordem de $170,11 \pm 11,2$ - $179,35 \pm 11,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para COT, $8,70 \pm 0,1$ - $9,50 \pm 0,1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para fosfato e $85,99 \pm 2,2$ - $86,65 \pm 2,2$ para NT.

Além disso, a utilização de tratamento físico-químico aplicando eletrocoagulação (EC) e eletrooxidação (EO) em condições separadas e conjuntas foram desenvolvidos por Elia *et al.* (2023) concluindo a definição da densidade de corrente ideal para EC de 40 mA/cm^2 (para remoção de DQO) após resultados equivalentes a eficiências de 7,4%, 40,5% e 28,9% para densidade de corrente de 20, 40 e 60 mA/cm^2 ao final de 2 horas de EC. Paralelamente, expostos as mesmas configurações para densidade de corrente e tempo, foram obtidos resultados de remoção de DQO inicialmente com concentração variando entre 75.300 a $80.300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ respectivamente em 21,7%, 30,1% e 45,4% definindo assim a corrente de 60 mA/cm^2 como densidade de corrente ideal para EO. Por fim, constatou-se eficiência máxima no tratamento de EC acoplado seguido de EO, adotando suas respectivas densidades de correntes ideais, equivalente a 82,4% foi alcançada em 90 min de exposição dado representação no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Eficiência de remoção de DQO sob processo combinado EC/EO

Fonte: Elia *et al.*, 2023.

2.2 Microalgas

Correspondentes a organismos unicelulares ou coloniais fotossintéticos além da atribuição como maiores produtores primários, as microalgas se encontram inseridos comumente em múltiplos ecossistemas aquáticos/úmidos (rios, lagos, oceanos e solos) sendo utilizadas como fonte para bioissorção e bioacumulação (principais precursores na biotransformação de arsênio inorgânico) e síntese de bioprodutos tais como combustíveis, químicos, materiais, cosméticos, ração animal e suplementos alimentares (Brasil, Garcia, 2016; Leong, Chang, 2020).

Devida ampla existência de espécimes apresentadas nas formas unicelulares, desde micro a milímetros de diâmetro, células em colônia, filamentos até folhas e talos com diferenciações complexas, múltiplos tipos de microalgas podem ser utilizadas para utilização em processos referidos anteriormente (sob condições adequadas de intensidade da luz, comprimento de onda, ciclo claro/escuro, temperatura, pH) sendo classificadas com base taxonômica no tipo de pigmento (separação clássica): *Cyanophyceae* (azul-esverdeada), *Rhodophyceae* (vermelho), *Phaeophyceae* (marrom), *Chrysophyceae* (marrom dourado), *Bacillariophyceae* (diatomáceas), *Chlorophyceae* (verde), e *Xanthophyceae* (verde-amarelo) (Ben-Amotz, 2009; Bhandari *et al.*, 2023).

Promovendo aplicação acerca das microalgas, Hoek *et al.* (1995) explicita seus pressupostos na divisão de dois tipos de estrutura celular: microrganismos de estrutura procariótica nas divisões *Cyanophyta* (cianobactérias) e *Prochlorophyta*, e microrganismos de estrutura eucariótica nas Divisões *Chlorophyta*, *Euglenophyta*, *Rhodophyta*, *Haptophyta* (*Prymnesiophyta*), *Heterokontophyta* (*Bacillariophyceae*, *Chrysophyceae*, *Xanthophyceae* etc.), *Cryptophyta* e *Dinophyta*.

Conforme exposto acima, a designação tradicional na classificação desses microrganismos quanto aos tipos de pigmentos acresce também a natureza química dos produtos de reserva e pelos constituintes da parede celular, contudo, avanços em técnicas de biologia molecular e tecnologias permitiram considerar também aspectos citológicos e morfológicos, tais como a ocorrência de células flageladas, a estrutura dos flagelos, os processos de formação do núcleo e da divisão celular, a presença e a caracterização de envoltório do(s) cloroplasto(s) e a possível conexão entre o retículo endoplasmático e a membrana nuclear (Tomaselli, 2004; Hu, 2004).

Remetendo a realidade brasileira conforme ao rol de variedade, segundo o programa Flora e Funga do Brasil (2023), integrante do Programa REFLORA/CNPq lançado em 2010 pelo governo brasileiro, existe cerca de mais de 5 mil espécies de algas catalogadas no país caracterizando como lar da flora mais rica do mundo. Tal particularidade juntamente aos níveis de insolação altos e constantes ao longo do ano na maior parte do seu território torna o Brasil como potencial produtor em larga escala de microalgas.

De acordo com Brasil e Garcia (2016), o cultivo e o processamento de microalgas podem ser realizados em um mesmo local, uma característica que favorece a produção integrada e sequencial de vários produtos e reduz os custos de logística nas instalações de biorrefinarias. Além disso, a obtenção dos produtos metabólitos gerados no cultivo comercial de microalgas são utilizados na alimentação de organismos marinhos e terrestres, suplementos alimentares humanos e processos ecossistêmicos relativos à biorremediação/fitorremediação de águas residuais e resíduos tóxico, fertilização do solo e biocombustíveis com suprimento da alta demanda de combustíveis fósseis por intermédio da inserção de fotobiorreatores em grande escala além da adoção de íntegras técnicas econômicas quando produzidos sob uso de lipídios de microalgas ao invés de óleos de culturas de sementes tradicionais e gorduras animais via reação de transesterificação (Perez-Garcia *et al.*, 2011; Sajjadi *et al.*, 2018; Abd El Baky, El Baroty, 2023).

Analogamente, vantagens aplicadas no emprego de algas no ramo da biotecnologia em múltiplas aplicações como na indústria farmacêutica podem ser descritas, conforme Hu *et al.* (2008) explicita:

- sintetizar e acumular grandes quantidades de lipídeo neutro/óleo, ou carboidrato (20-50% do peso seco);
- crescimento a taxas elevadas (por exemplo, duplica de 1-3 vezes por dia), toleram regiões que não são adequados para a agricultura convencional (por exemplo, solos do deserto, árido e semiárido);

- utilizar os nutrientes para o crescimento, tais como nitrogênio e fósforo a partir de uma variedade de fontes de águas residuais, proporcionando o benefício adicional de biorremediação em águas residuais;
- removem o dióxido de carbono de gases emitidos de combustíveis fósseis de usinas termoeletricas e outras fontes, gerando assim uma maior redução das emissões de gás no efeito estufa;
- produz coprodutos ou subprodutos de alto valor agregado (biopolímeros, proteínas, polissacarídeos, pigmentos, ração animal, fertilizante e H₂);
- crescem durante todo o ano com uma produtividade cerca de dez vezes maior que vegetais superiores.

2.2.1 Características biológicas da Divisão Chlorophyta

Grupo de organismos eucarióticos subdivididas em quatro classes com inúmeras pluralidades morfológicas apresentando formas microscópicas e macroscópicas, amido (composto de amilose e amilopectina) como produto de armazenamento diferindo de outras algas pela produção no interior dos cloroplastos, clorofila *a* e *b*, carotenoides que, na deficiência de nitrogênio ou outro estresse ocasionado no meio, podem ser sintetizados e acumulados fora dos cloroplastos (Tomaselli, 2008).

- ❖ **Classe *Prasinophyceae*:** também descrito na literatura como *Micromonadophyceae*, corresponde ao grupo polifilético ou parafilético de algas verdes flageladas unicelulares com mitose aberta ou fechada, com ou sem fuso telófase (última etapa da mitose) persistente e citocinese por um sulco de clivagem ou placa celular de vesícula dentro do ficoplasto (Hoek *et al.*, 1995);
- ❖ **Classe *Charophyceae*:** grupo amplo predominantemente de água doce podendo ser encontrado em forma unicelulares, filamentosos, coloniais ou multicelulares. São caracterizados pela existência de células móveis assimétricas com dois flagelos anexados em posição lateral, armazenamento de amido em plastídios característicos e reprodução sexuada (oriundo de zigoto dormente) ocorrendo meiose no zigoto germinado (Horta; Ouriques, 2009);
- ❖ **Classe *Ulvophyceae*:** essencialmente marinhas e bentônicas incluindo cerca de 2000 mil espécies (uma minoria equivalente a 200 espécimes ocorre em águas doces), possibilidade de reprodução sexuada ou assexuada através da divisão celular por sulcos sem ficoplastos e ciclo de vida diplo-haplôntico heteromórfico ou isomórfico,

ou um ciclo de vida haplôntico, além de parede celular compostas de celulose, mananas, xilanas e polissacarídeos sulfatados (Leliaert, 2019);

- ❖ **Classe *Chlorophyceae*:** grupo monofilético cosmopolitas de grande maioria microscópica de água doce com células móveis de raízes flagelares com simetria externa radial, reprodução sexuada (geralmente haplôntico com fase de dormência do zigoto) e assexuada (divisão celular ou produção de zoósporos ou autósporos), destacando a ocorrência de simbiose de algumas espécies com fungos denominados líquens (Leliaert, 2019).

Promovendo uma análise quanto a microalga *Tetrademus obliquus*, clorófita pertencente a classe das clorofíceas, as mesmas são caracterizadas por sua forma elipsoidal de colônias planas em série linear, agrupamento comumente em 4-8 células, biomassa consistida de alta fonte de proteínas como lectinas e alto índice de crescimento a tornando um dos principais empregos na produção de biocombustíveis, hidrolisados proteicos e proteínas (Movafagh *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2018; León-Saiki *et al.*, 2018).

Além disso, processos de estresse no cultivo de *Tetrademus obliquus* equivalentes a alteração de fenômenos de autorregulação celular estruturados nas etapas de alerta, regulação, aclimação e adaptação possibilitam a atribuição de componentes positivos ao desviar a homeostase da microalga através da regulação de CO₂ no sistema de cultivo corroborando não apenas na geração de ácidos graxos saturados como também na melhoria das etapas de extração de carotenoides e vitaminas (Borowitzka, 2018; Tang *et al.*, 2011; Chronopoulou *et al.*, 2019).

2.2.2 Aspectos nutricionais e ambientais

Classificadas como fototróficas, na grande maioria dos casos, as microalgas autotróficas assimilam como metabolito principal carbono de fonte inorgânica, sintetizam hidroxilas e como consequência, promovem o aumento do pH no sistema. Com base nos argumentos de Khatiwada *et al.* (2022) e Lu *et al.* (2018), condições ideais para o desenvolvimento algal inserido no sistema de cultivo em condições fototróficas são obtidos por intermédio da conversão da iluminação (fonte de energia) e CO₂ (fonte de carbono orgânico) em energia química além de outros fatores como nutrientes (nitrogênio, fósforo e enxofre) e vários oligoelementos.

Dado as múltiplas classes metabólicas das microalgas, as mesmas apresentam diferenças simbólicas em seus mecanismos. Abiusi *et al.* (2021) afirmam que cultivos de microalgas com metabolismo heterotrófico (ou seja, assimilam carbono orgânico como glicose, glicerol e

sacarose apresentando produção de CO₂ e diminuição do pH) são tipificados pela minimização de transtornos limitados pelo uso da iluminação e obter altas concentrações de biomassa, no entanto nem todas as espécies de microalgas conseguem tolerar e se desenvolver nesta condição de cultivo. Nesse contexto, a Tabela 4 visa fornecer uma visão geral da composição nutricional característica das principais divisões de algas, sendo possível observar padrões intrigantes que refletem suas adaptações evolutivas e habitats específicos.

Tabela 4 – Distribuição nutricional acerca das divisões algais

Divisão	Tipo de Nutrição	Produto de Reserva
<i>Cyanophyta</i>	Estritamente fototróficas podendo ocorrer de modo facultativo	Glicogênio
<i>Prochlorophyta</i>	Fotossintetizantes	Amido
<i>Chlorophyta</i>	Maioria fotoautotrófica	Amido
<i>Euglenophyta</i>	Maioria heterotrófica com existência de espécimes fotossintetizantes	Grânulos de Paramilo
<i>Rhodophyta</i>	Fototróficos	Amido
<i>Haptophyta</i>	Maioria fototróficas com ocorrência de mixotrofia (osmotrofia ou fagotrofia)	Semelhante ao paramilo das euglenofíceas
<i>Heterokontophyta</i>	Quase sempre autotróficas	Crisolaminarina
<i>Cryptophyta</i>	Maioria fototróficas com ocorrência de heterotróficas sem plastídios ou com plastídio não-pigmentado	Grãos de grãos de glicanos α 1-4 ramificados em α 1-6
<i>Dinophyta</i>	Fotossintéticos ou heterótrofos (fagotróficos ou osmotrofia)	Amido e reservas lipídicas

Fonte: Adaptado de Reviere, 2006.

Esses microrganismos encontram-se em constante processo de respiração ocasionando perda de biomassa com a presença de luz (item mais evidenciado na ausência) compensada com o alto ganho no processo fotossintético. Como mecanismo mitigatório, fontes de carbono como fonte de energia durante a ausência de luz são inseridos nos cultivos algais configurando as condições do meio metabólico como mixotróficos (fontes de carbono orgânico e inorgânico como fonte de energia) apresentando como fatores relevantes na velocidade de crescimento e multiplicação da espécie a luz, a qualidade e a quantidade de nutrientes, a temperatura, salinidade, pH, agitação e a qualidade da cepa (Raven, Beardall, 2016; Miao *et al.*, 2016).

- **Carbono, Nitrogênio e Fósforo**

Designado como principal componente na produção de biomassa algal, a fonte de carbono varia de acordo com o sistema metabólico do microrganismo sendo absorção de carbono sob a forma de dióxido gasoso e conversão em hidrocarbonetos durante o processo de

fotossíntese (microalgas fototróficas) e absorção substâncias orgânicas como, por exemplo, açúcares (sacarose, glicose e frutose), ácidos orgânicos (ácido acético, ácido láctico), álcoois e aminoácidos (microalgas heterotróficas ou mixotrófica) sendo capazes de absorver aproximadamente entre 1,65 e 1,83 g de dióxido de carbono a cada 1 g de biomassa obtida (Lee, 2004).

Em condições mixotróficas o crescimento microalgal detém da combinação de processos metabólicos autotróficos e heterotróficos (sendo chamado de mixotrófico) promovendo o funcionamento de fotossíntese e assimilação de carbono orgânico e inorgânico, resultando assim no aumento de produtividade (PEREIRA *et al.*, 2012; MOSER *et al.*, 2017).

O cultivo mixotrófico ganha destaque quando analisado o desempenho do cultivo no período da noite (ciclo escuro) onde a concentração celular das microalgas diminui pois se instaura uma interrupção na fase de crescimento autotrófico, mas havendo carbono orgânico há a possível incorporação dele precavendo a perda de biomassa e ativando o crescimento celular contínuo independente do ciclo vigente como exemplo da microalga *Galdieria sulphuraria* (Cyanidiaceae) (Ogbonna, Tanaka, 1998; Barone *et al.*, 2020).

Vale ressaltar a adoção usual de sistemas de cultivo em batelada ou estacionário mesmo nos casos de cultivo em larga escala com assimilação de carbono orgânico dependendo da disponibilidade de transporte interno da célula e a presença de enzimas específicas que convertem tais fontes de carbono em precursores adequados para o metabolismo algal (Azma *et al.*, 2011; Bussa *et al.*, 2019)

Pontua-se ainda a importância do nitrogênio e fósforo no período de cultivo das microalgas sendo obtido através dos efluentes nutricionalmente autossuficientes com assimilação de nitrogênio na forma de nitrato e amônia para síntese de compostos celulares e produção de proteínas por exemplo, paralelamente os impactos do fósforo no crescimento algal constitui a regeneração de substratos no ciclo de Calvin-Benson e estabilização da quantidade de proteínas e clorofila (Baiee, 2016).

Pesquisas concentradas na busca de maximizar as condições de cultivo da *T. obliquus* sob sistema mixotrófico destacam melhores adequações a fontes de carbono glicose ao invés de acetado (produção de biomassa em 14,77 g·L⁻¹ e 2,5 g·L⁻¹ respectivamente), fontes de nitrogênio utilizando nitrato ao invés de amônia e uréia (produção de biomassa 2-3 vezes maior) e maior produtividade em biodiesel quando exposto a variação do nível de suprimento de fósforo percorrendo pelo esgotamento e limitação até reposição além da maior produção de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMEs – *fatty acid methyl esters*) na ordem de 24,2 mg·L⁻¹·dia⁻¹ constatando um possível “gatilho lipídico” representado pela falta de nitrogênio

adicionado de suprimento suficiente de fósforo (Shen *et al.*, 2018; Vieira, 2018; Tang *et al.*, 2011; Chu *et al.*, 2014).

- **Temperatura**

Relacionado com a expressão gênica, atividade enzimática e a variação do metabolismo algal de maneira diretamente proporcional (elevadas temperaturas aceleram o metabolismo), a temperatura encontra-se como notável atuante na produção de biomassa, proteínas, lipídios e compostos fenólicos apresentando efeito mais acentuado na respiração escura onde o aumento da taxa respiratória (principalmente quando a temperatura a noite é elevada) faz com que o fenômeno de perda noturna de biomassa diminua a produtividade do cultivo (Horváth *et al.*, 2012; Tan *et al.*, 2017; Dourou *et al.*, 2018).

Conforme Furhan (2020) e Leya (2020), o crescimento algal detém como temperatura ótima valores entre 35 e 37°C podendo tolerar temperaturas de 8 a 15° C abaixo do valor ótimo (caso de microalgas classificadas como psicrófilos que apresentam temperaturas ótimas de crescimento iguais ou inferiores a 15 °C e temperaturas máximas de crescimento abaixo de 20 °C) e apenas aproximadamente 4°C acima. Contudo, ressalta-se que baixas temperaturas acometem o desaceleramento do metabolismo inibindo a taxa de crescimento e, no caso de temperaturas muito acima do recomendado podem acarretar a morte da cultura (Mata *et al.*, 2010)

Entretanto, vale ressaltar que cada espécime de microalga apresenta suas respectivas faixas ótimas de temperatura com base nas suas características biológicas, ambientais e nutricionais sendo classificadas como psicrófilos (já abordado anteriormente), mesofílicos (temperatura ideal variando entre 25 e 35°C, como exemplo da microalga *Tetradismus obliquus*) e termofílicos (resistência a temperaturas mais elevadas podendo chegar até 60°) (González-Camejo *et al.*, 2019).

- **Agitação e pH**

Relativo à componente agitação da cultura (meio líquido) tem como função evitar a foto-oxidação pela eliminação do oxigênio supersaturado no meio além de promover a suspensão contínua das células evitando deposição no fundo do fotobiorreator de parte das células presentes enquanto outras seguem na superfície absorvendo luz em excesso (Brennan; Owende, 2010).

Paralelamente, segundo Tripathi (2015), o potencial hidrogeniônico (pH) das células algais é considerado como componente de influência no crescimento e produtividade das algas

sendo definido como citosólico (neutro ou ligeiramente alcalino) com enzimas celulares sensíveis às mudanças de pH.

Acresce-se ainda a relação entre a adição de CO₂ e o controle do pH nos meios de cultivos visto a necessidade de estabilização do sistema biológico por meio da injeção de CO₂ onde, em consequência da elevação da concentração de CO₂, ocorre a mudança pH da mistura para meio ácido afetando negativamente a fisiologia das células. Além disso, o CO₂ é caracterizado como a fonte de carbono inorgânico das microalgas em condições de pH abaixo de 5, diferente do intervalo de pH entre 7 e 9 onde a fonte mais relevante passa a ser bicarbonato, e acima de 9,5, carbonato (Kumar *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 2021).

Vale ressaltar a determinação de pH ótimo para microalgas da espécie *T. obliquus* equivalente produção de biomassa, lipídios e crescimento valores próximos da neutralidade, ou seja, entre 7,0 e 8,0 (Dias *et al.*, 2022).

- **Intensidade Luminosa**

Designada como item imprescindível nos processos fotossintéticos, a luminosidade corresponde para os sistemas de cultivos algais como fonte de energia para conversão de nutrientes inorgânicos e dissolvidos no sistema em biomassa necessitando ser disponibilizada em mecanismos contínuos (dada impossibilidade de acúmulo) afetando o organismo algal pela quantidade de energia disponível (intensidade luminosa), pela periodicidade do suprimento (fotoperíodo) e pela composição do espectro de radiação (Richmond, 1990).

Especificando às microalgas, a intensidade luminosa mínima requerida deve ser entre 10 e 15 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ para assimilação de determinados compostos como a glicose com faixa de luminosidade fotossinteticamente ativa nos comprimentos de onda entre 400 e 750 nm sendo um fator limitante na produtividade (Subramanian *et al.*, 2016).

Apesar da grande importância nesses sistemas, Chojnacka e Marquez-Rocha (2004) alertam que taxas extremas de luminosidade são responsáveis pela ocorrência de mecanismos inibidores do crescimento algal como a formação de peróxido de hidrogênio (tóxico às células) oriundos da reação entre a água e elétrons de alta energia na célula obtido pelo fluxo de fótons absorvidos nos tilacóides.

Gonçalves *et al.* (2019) analisou o comportamento da *Tetrademus obliquus* sob diferentes configurações na intensidade luminosa constatando o efeito significativo na produção de biomassa com incremento na quantidade de carotenoides e clorofila *a* e *b* quando expostos a junção entre a cor de luz azul e intensidade de 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{fótons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de luz branca,

e elevada concentração final de biomassa condicionada a exposição a luz verde com intensidade de $95 \mu\text{mol} \cdot \text{fótons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ durante o cultivo.

Acresce ainda estudos consistidos na análise de múltiplas condições de irradiação no crescimento da *T. obliquus* verificando a taxa de crescimento máxima em fótons de $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ e impactos correlatos ao fotoperíodos/ciclo claro-escuro constatando a favorecimento no aumento do desenvolvimento celular e produção de proteínas ou no teor de lipídios/clorofila sob condições de iluminação constante e períodos escuros (12:12), respectivamente (Gris *et al.*, 2014; Vendruscolo *et al.*, 2019).

2.2.3 Microalgas no tratamento de efluentes

Devido aos benefícios competitivos desses microrganismos na conversão de materiais orgânicos e inorgânicos, como nitrogênio e fósforo (nutrientes agentes da eutrofização) em biomassa para a produção de bioprodutos valiosos e de interesse de mercado, a inserção de microalgas em tratamento de resíduos para o tratamento secundário e terciário dos resíduos vem adquirindo destaque atrativo na perspectiva científica e comercial com registros de pioneirismo na década de 50 (Lima *et al.*, 2007; Lutz *et al.*, 2021).

Dentre os processos de tratamento de efluentes (ou outros tipos resíduos) com utilização de agentes biológicos, destaca-se a biorremediação, setor oriundo da biotecnologia com ênfase na inserção de microrganismos no tratamento ambiental com a ressalva da troca de nomenclatura para fitorremediação quando ocorre a utilização de microalgas no processo com aplicação no consumo de nutrientes de resíduos ou águas residuais (nitrogênio e fósforo) e consequentemente ofertando produção de biomassa. Tem-se então como objetivo a remoção ou biotransformação de contaminantes e componentes tóxicos em espécies químicas não reativas com realização de três formas distintas: biossorção, biocoagulação e biodegradação (Emparan *et al.*, 2019).

- **Biossorção:** agregamento de compostos na superfície celular, permitindo a remoção dos contaminantes com recuperação de biomassa;
- **Biocoagulação:** adsorção dos contaminantes na cadeia polimérica sendo arrastado para fora da solução durante a decantação;
- **Biodegradação:** rompimento de ligações químicas dos contaminantes, que são metabolizadas durante o crescimento celular, reduzindo o composto inicial em CO_2 ou na síntese de compostos orgânicos celulares.

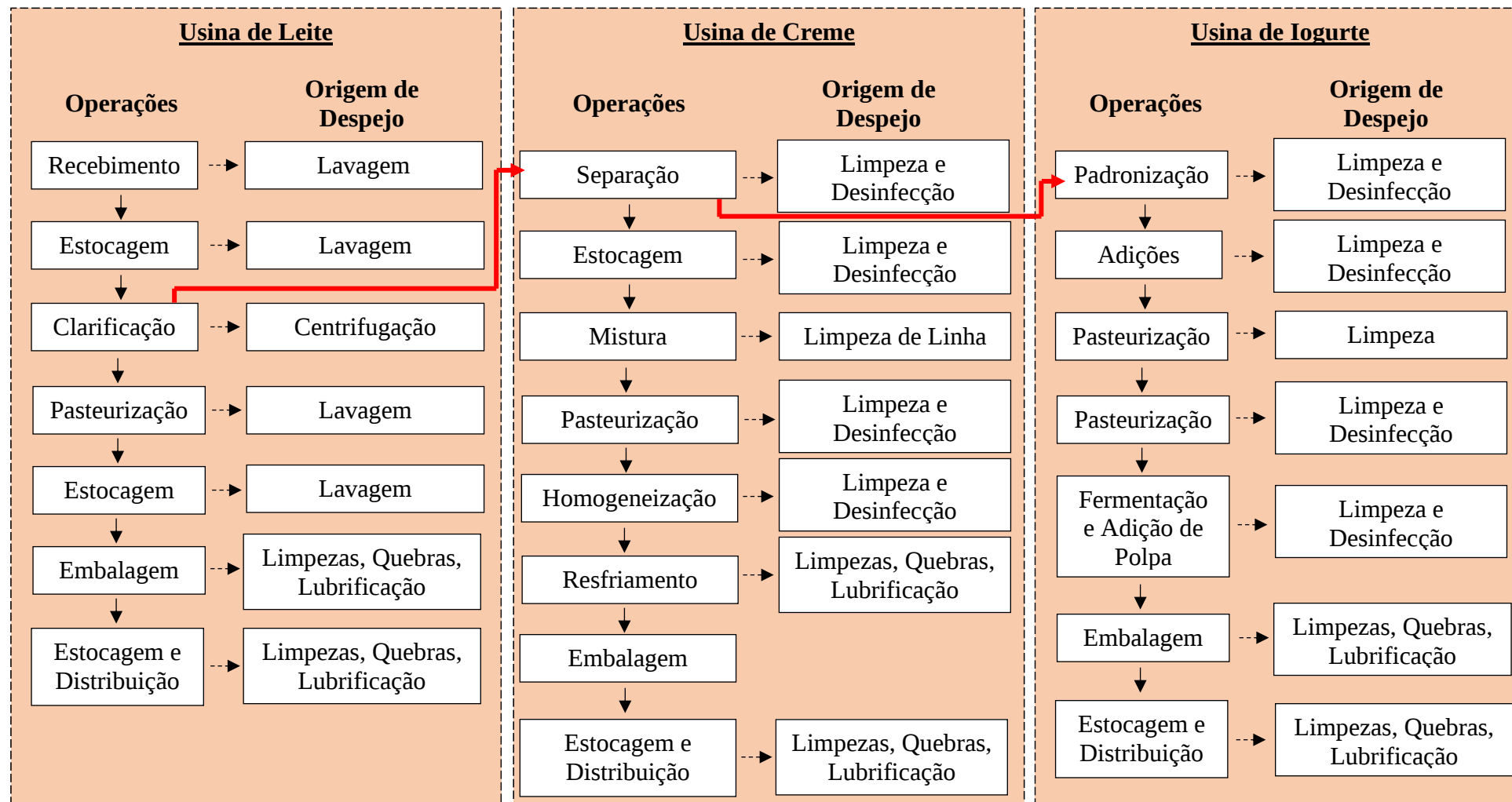
Conforme a EMPRABA (2016), sob um olhar voltada a aplicação em efluentes de indústrias agroenergéticas como meio cultivo, destaca-se a utilização da vinhaça (aplicada em

condições atuais na fertirrigação dos canaviais) com o aproveitamento das altas concentrações de nutrientes essenciais para as microalgas (NPK – nitrogênio, fósforo e potássio) e particulares complicações apresentadas na etapa da fotossíntese com a dificuldade da passagem de luz devida coloração escura do efluente, além das elevadas cargas de matéria orgânica responsáveis por favorecer a proliferação de bactérias e leveduras promovendo assim a contaminação do meio de cultivo e fragilidades no crescimento das microalgas mesmo com a alta presença de NPK.

Acresce ainda aplicações da indústria sucroalcooleira com o aproveitamento de gás carbônico (CO₂) sendo este injetado nos sistemas de cultivo corroborando na fotossíntese microalgal com promoção da biofixação e redução das concentrações de CO₂ emitidos na atmosfera, e do efluente Pome (*palm oil mill effluent*) resultante do processamento da palma-de-óleo (dendê) caracterizado por ações poluidoras semelhantes a vinhaça (Khalid *et al.*, 2019; Hariz *et al.*, 2019).

Remetendo-se a temática do presente projeto, a indústria de laticínios contribui de forma significativa nos estudos da funcionalidade de seus respectivos efluentes tendo em vista, como explicita Markou e Georgakakis (2011) ou Bella e Rao (2023), devido ao seu elevado consumo de água e geração de efluentes líquidos resultantes de operações de lavagens de silos, tubulações, tanques, pasteurizadores e equipamentos como exposto na Figura 1.

Figura 1 – Principais fontes de geração de efluentes nas usinas de laticínios



Fonte: Adaptado de Andrade, 2011; Bella e Rao, 2020.

Estudos realizados visando contornar os impactos ambientais oriundos do lançamento de águas residuárias de laticínios enfocam na utilização dos mesmos para geração de biomassa, biossíntese de lipídios, produção de biodiesel e acúmulo de produtos com valor agregado sob um regime mixotrófico (PATEL *et al.*, 2020). Experimentos realizados sob condições mixotróficas por Kuravi e Venkata Mohan (2022) (estruturados na utilização da microalga *Monoraphidium sp.* O SVMIICT6) constataram o acúmulo de conteúdo de carboidratos, proteínas e lipídios de 22,88%, 48,88% e 25%, respectivamente.

Pontua-se ainda estudos de Chaves *et al.* (2012) e Kiran e Venkata Mohan (2022) promoveram análises acerca do tratamento com agente microalgal de concentrações de efluentes proveniente das águas residuais de laticínios (destaque para utilização, na pesquisa de Chaves *et al.* (2012), da água de lavagem das máquinas e equipamentos de produção) com as espécies *Spirulina generation*, obtendo redução de até 93,6% para a concentração inicial de DQO igual a $2.800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em frascos de Erlenmeyer, e *Tetrademus sp.* SVMIICT4 – alcançando $2,38 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de biomassa e eficiência de remoção de DQO de 95,5% (concentração inicial de $3.600 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

2.2.4 *Tetrademus obliquus* e o tratamento de efluente

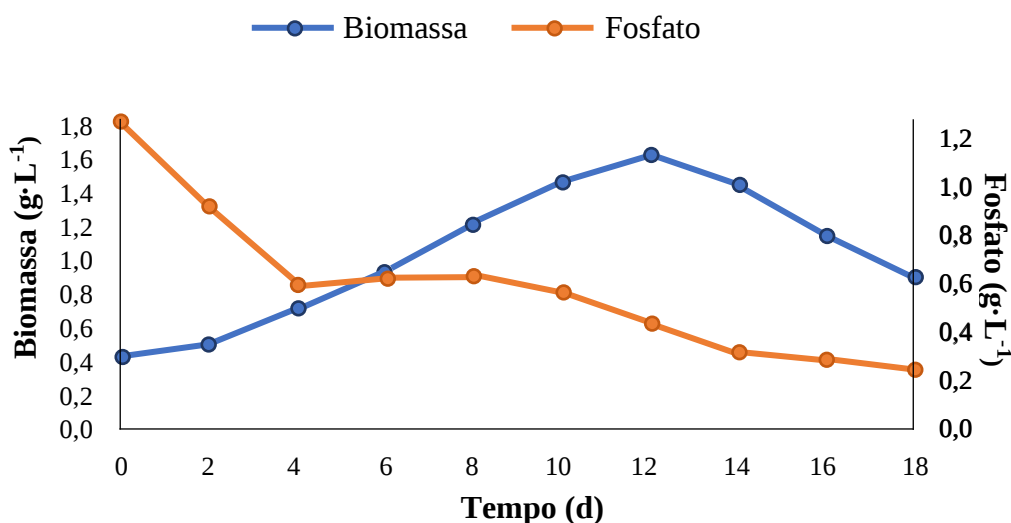
Com base nos argumentos de Breuer *et al.* (2014) a microalga *Tetrademus obliquus* (nomeada antigamente como *Scenedesmus acutus*), assim como outros espécimes do gênero *Tetrademus* (filo *Chlorophyta*), detém da capacidade de acumular até 55% do seu peso seco na configuração de lipídeos e até 40% na forma de amido. Acresce ainda sua capacidade de consumir diversas fontes de carbono inorgânico e orgânico, notável adaptação a condições de estresse relativo ao biosistema inserido além da alta taxa de crescimento e acúmulo de quantidades substanciais de macromoléculas de interesse (Islami, Assareh; 2019).

Em aplicação no tratamento de efluentes gerados da suinocultura caracterizados pelas elevadas concentrações de azoto amoniacal e matéria orgânica, estas tóxicas às microalgas, a *Tetrademus obliquus* possui pontos positivos quanto sua posterior utilização da biomassa oriunda do processo como biofertilizante ou bioestimulante além das relevantes remoções de contaminantes. Como solução da problemática anterior, tem-se o incremento de pré-tratamentos como photo-Fenton e stripping de amônia de modo separados e sequenciais reduzindo o nível de amônia (NH_4^{4+}), fósforo (PO_4^{3-}), demanda química de oxigênio (DQO) e a cor. O fator resultado apresentou, com associação de pré-tratamento com PF e AS seguido da inserção de microalgas, possibilitou reduções de DQO (teor inicial de $3.554 \pm 181 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),

NH_4^{4+} (teor inicial de $1.725,63 \pm 34,29 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), e PO_4^{3-} (teor inicial de $123 \pm 6,15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) em 95, 100, 100%, respectivamente (Ferreira, 2022).

Pesquisas realizadas por Silva (2022) utilizaram a microalga *Tetrademus obliquus* incubada em meio sintético composto de vários sais orgânicos e inorgânicos como exemplo nitrato de sódio, sulfato ferroso hepta-hidratado e fosfato de potássio dibásico (meio CHU), iluminação permanente de 24 horas por dia ($100 \mu\text{mol fótons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) misturadas com 1g de alginato de cálcio e gotejadas em uma solução de cloreto de cálcio (CaCl_2) 0,4 M sob a agitação constante formando a gelificação iônica/ionotrópica e, conseqüentemente, esferas instantâneas de microalgas variando na ordem de 4 mm de diâmetro. Além disso, após a formação das esferas, as mesmas foram submetidas ao banho numa solução de quitosana solubilizada em 2% de ácido acético e armazenadas em solução heptamolibidato de amônia para surgimento de nanoporos de quitosana na superfície das esferas. Como resultado (Gráfico 2) da imobilização da *T. obliquus*, foram obtidas eficiências de remoção de fosfato em cerca de 80%.

Gráfico 2 – Curvas de crescimento celular e a de redução do fosfato no meio



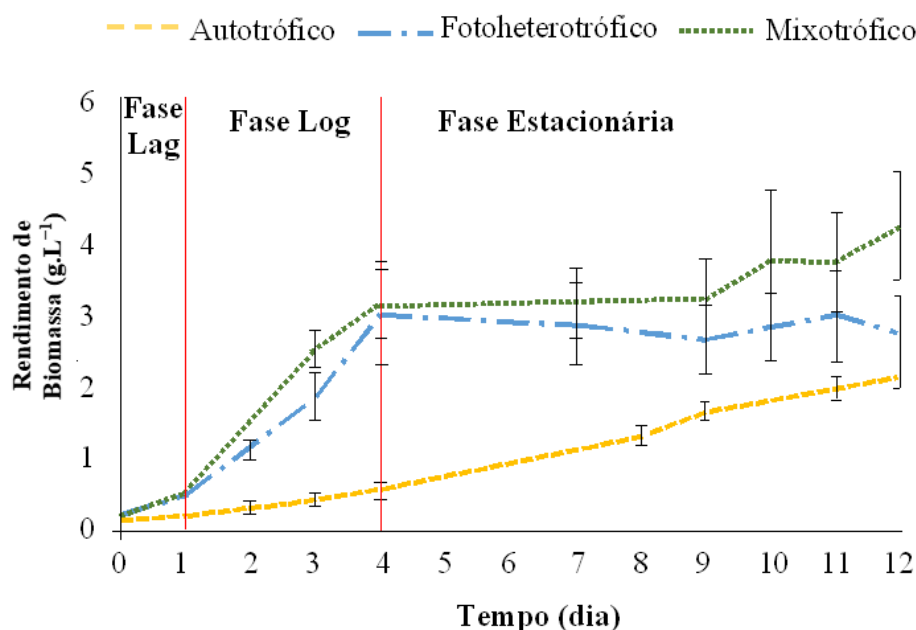
Fonte: Adaptado de Silva (2022)

Debates pautados sobre os sistemas de cultivos da *T. obliquus* são estruturados conforme sua aplicação no setor de tratamento de efluentes apresentando, no caso de Piasecka *et al.* (2020), teste de desempenho com indução das vias metabólicas pela suplementação com melaço de beterraba como fonte de carbono e nitrogênio, realizando três distintos mecanismos: sistemas autotróficos, fotoheterotróficos e mixotrófico, equivalendo respectivamente em cultura aerada (controle), cultura suplementada com melaço e cultura suplementada com melaço aerado.

Por intermédio de análises gráficas das curvas de crescimento (Gráfico 3), Piasecka *et al.* (2020) constatarem fases de crescimento individuais e taxa de crescimento aumentada na ordem autotrófico < fotoheterotrófico < mixotrófico apresentando as seguintes características:

- **Cultura autotrófica:** observação de fase linear com obtenção de $2,12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ a biomassa celular de *T. obliquus* obtidos após 12 dias de cultivo correspondendo ao tempo de duplicação de biomassa superior a 51 horas e 2,4 vezes menor na cultura mixotrófica
- **Cultura fotoheterotrófica:** curta fase lag (0-1 dia), seguida por uma fase logarítmica (1-4 dias) e uma fase estacionária (4-12 dias);
- **Cultura mixotrófica:** curta fase lag (0-1 dia) e uma fase de log (1-4 dias) com diminuição do crescimento sem observação de fase estacionária típica, registrando o maior crescimento de biomassa de *T. obliquus* igual a $4,21 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ com nível de produtividade diária estimado em $0,39 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$.

Gráfico 3 – Curva de crescimento de *Tetrademus obliquus* sob distintas condições



Fonte: Adaptado de Piasecka *et al.* (2020).

2.3 Fungos filamentosos

Caracterizados como seres eucarióticos, os fungos destacam-se por sua vasta quantidade de espécies (estima-se cerca de 1,5 milhão de espécies sendo destas apenas cerca de 90 mil conhecidas e descritas) geralmente filamentosos e multicelulares cujo crescimento é comumente apical, contudo, fragmentos hifálicos em geral quando destacados e colocados em condições adequadas possibilitam a origem de uma nova formação micelial; com reprodução

podendo ser assexual (fase anamórfica), sexual (fase teleomórfica) ou a junção dessas fases (fase holomórfica) (Putzke, 2004; Vermelho *et al.*, 2019).

Apresentam-se sua soma (fase vegetativa) em duas possíveis formas de unidade morfológica básica sendo elas a leveduriforme/levuriforme e a hifal, entretanto podendo ainda ser classificado como dimórfico que correspondem a fungos filamentosos capazes de assumir forma de levedura sob condições particulares, diminuindo a capacidade de filamentação e dividindo-se por brotamento, conferindo às colônias aspecto cremoso (Leite, Esposito; 2010, ANVISA, 2004).

Vale ressaltar, com base nos argumentos de Leite e Esposito (2010), a utilização imprópria de termo *filamentoso* para todos os fungos de modo indefinido quando, na verdade, a generalidade dos Filos ou Divisões do Reino Fungi apresenta-se filamentoso e com suas respectivas distinções morfofisiológicas, genéticas, bioquímicas etc.

Referente ao seu respectivo Reino, conforme Leite (2010), a teoria mais viável a maior proximidade do Reino Fungi ao Reino *Animalia* que do *Plantae* considerando características como:

- Existência de flagelo posterior;
- Produto de reserva – glicogênio;
- Seu código mitocondrial UGA codifica triptofano;
- Presença de quitina, ou seja, polissacarídeo formado por longas cadeias de N-acetilglucosamina (2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose). Atua nos fungos como parte constituinte da parede celular que proporciona rigidez às células.

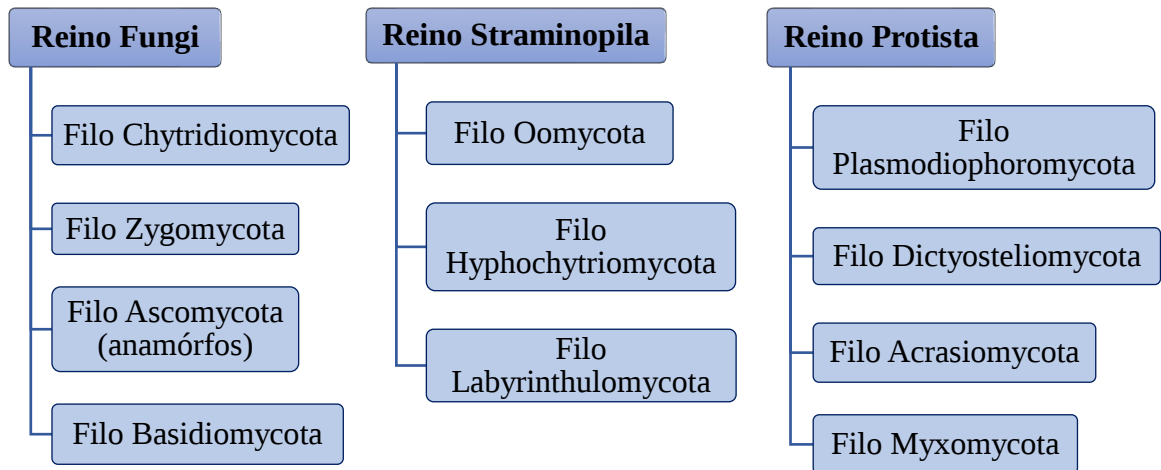
Os estudos voltados ao sistema de classificação dos fungos, dados avanços gradativos nas análises morfológicas, fisiológicas e microscopia eletrônica, encontram-se em corriqueiras adições ou alterações até os dias atuais. Segundo Alexopoulos *et al.* (1996), o Reino Fungi pode ser separado e agrupado em três reinos sendo eles *Fungi* (definido por alguns autores como “fungos verdadeiros” ou apenas Fungos com a letra inicial maiúscula), *Stramenipila* (microrganismos antes denominados como “fungos zoospóricos”) e Protista (agrupados em quatro Filos polifiléticos).

Contudo como dito anteriormente, dado avanços teóricos e tecnológicos, novas classificações e alterações nas divisões assumindo a divisão em Reinos Fungi, Chromista e Protista em 2001 e posteriormente em 2008 (KIRK *et al.*, 2008).

As figuras 2 e 3 apresentadas abaixo ilustram as classificações dos fungos, pseudofungos e organismos plasmodiais nas décadas de 1990 e 2001/2008, proporcionando

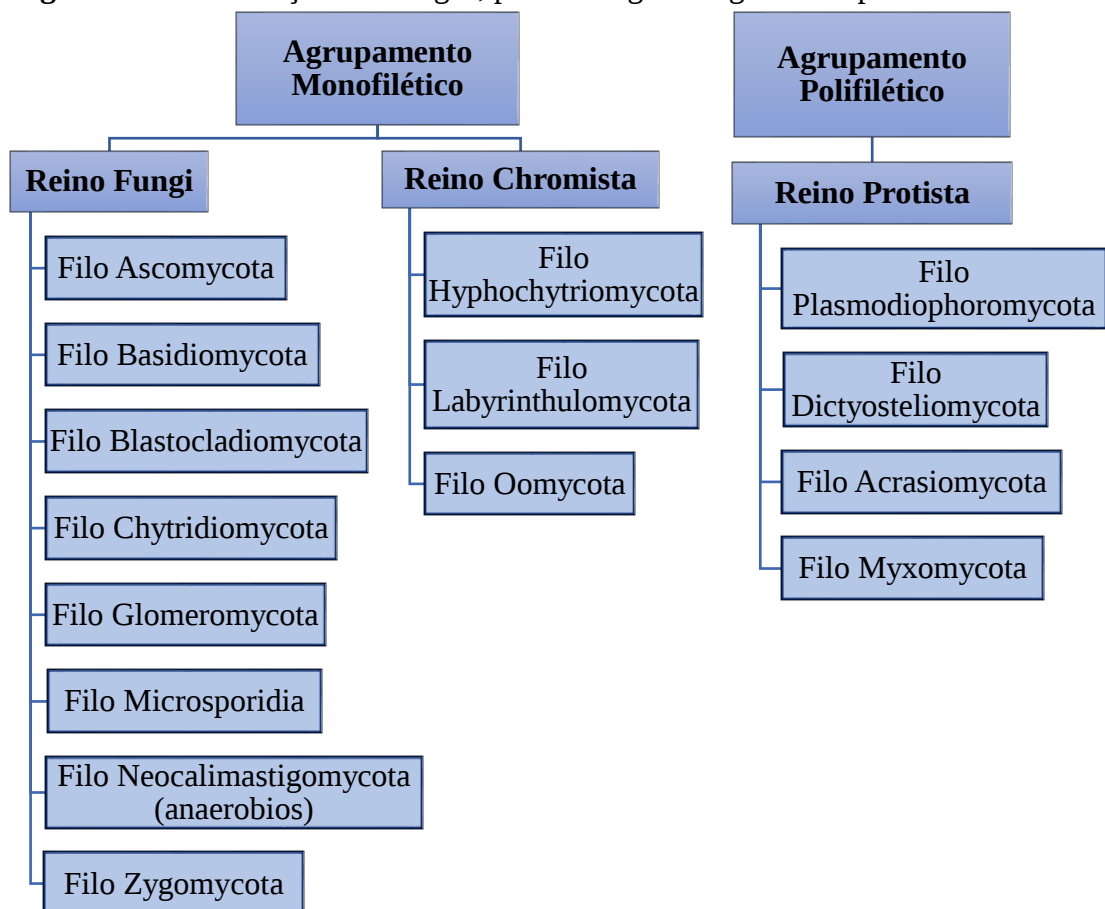
uma visão comparativa das mudanças e desenvolvimentos ocorridos nesse período enfatizando assim a incorporação de novos dados moleculares e morfológicos, resultando em uma classificação mais refinada e abrangente, que melhor reflete as relações evolutivas entre os diferentes táxons.

Figura 2 – Classificação dos fungos, pseudofungos e organismos plasmodiais década de 1990



Fonte: Alexopoulos *et al.*, 1996

Figura 3 – Classificação dos fungos, pseudofungos e organismos plasmodiais 2001/2008



Fonte: Adaptado de Kirk *et al.*, 2008.

Promovendo uma descrição sobre o fungo *Cunninghamella echinulata*, pertencente a Ordem *Mucorales* e representantes da Divisão *Zygomycota*, pode-se constatar como grande potencial produtor de ácido gama-linolênico lipídico e óleos unicelulares além da habilidade em processos de biorremediação de metais metálicos em águas contaminadas por meio da ação em absorver e capturar esses componentes; porém apesar de tais características positivas, seu fator patogênico para doenças reduzindo suas atribuições em recuperações ambientais (Xie *et al.*, 2015; El-Baz *et al.*, 2021).

2.3.1 Características biológicas do Filo Zygomycota

Apesar de algumas espécies se enquadrarem como dimórficas, a grande maioria apresenta-se na forma micelial ramificado e cenocítico quando jovens com a possibilidade do desenvolvimento de septos com microporos quando crescidos. Além disso, sua parede celular é constituída por quitina (copolímero constituído por unidades N-acetil-D-glucosamina e D-glicosamina) e quitosana (polissacarídeo amino derivado do processo de desacetilação da quitina) ou no caso dos microrganismos pertencentes ao Tricomycetos, por galactosamina e polímeros de galactose (Moreira, Schoenlein-Crusius; 2010).

Relativo ao sistema de reconhecimento sexual tem-se a divisão das espécies inseridas nesse Filo entre homotáticas (zigósporo formado em culturas derivadas de um único esporangiósporo) e heterotática (existência de dois isolados ou culturas compatíveis (+) e (-) no processo sexual).

O processo de reprodução sexuada ocorre por copulação gametangial na porção terminal das hifas por intermédio da fusão dos gametângios ligados à hifa por uma estrutura denominada suspensor. Através desse processo, resulta-se a formação do zisporângio correspondente a uma estrutura de paredes grossas produtora de um zigósporo (Santos, 2015).

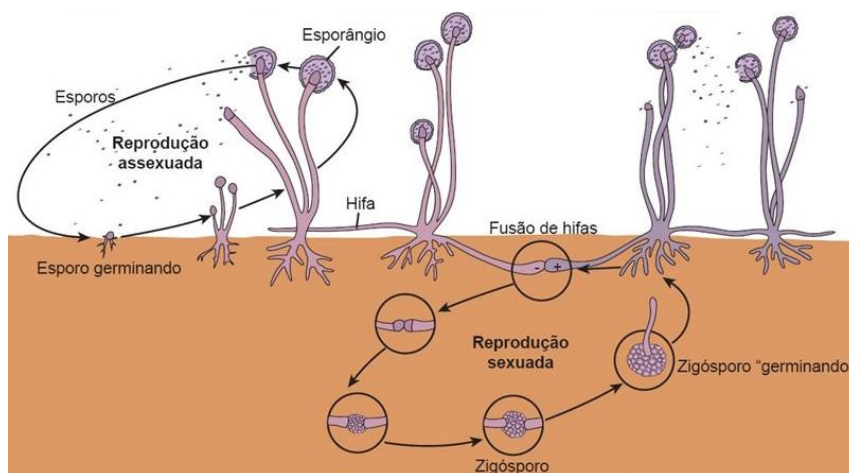
Já o processo de reprodução assexuada, de acordo com argumentos de Leite (2010) e Maia (2005), consistido na diferenciação de hifas especializadas (esporangióforos), ou seja, pequena formação do talo do fungo que suporta em suas extremidades o esporângio correspondente ao local (em seu interior) de produção de seus esporos (esporangiósporos). Vale ressaltar que um esporângio pode conter cerca de 100.000 unidades de esporangiósporos, sendo estes um possível critério de classificação conforme descrito abaixo:

- ❖ **Esporangíolo:** esporângio apresenta número reduzido de esporos (2-30);
- ❖ **Esporangíolo Uniesporado:** presença de apenas um esporo;

- ❖ **Merosporos:** dispostos em série linear (2-14 unidades), dentro de estruturas saculares (neste caso a estrutura de transporte denomina-se merosporângio).

Acresce ainda que, em algumas espécies dentro do respectivo Filo, ocorre a produção de clamidósporos e artrósporos ou ainda azigósporos (estruturas originadas partenogeneticamente sem plasmogamia ou cariogamia semelhantes à zigósporo) (Alexopoulos *et al.*, 1996).

Figura 4 – Ciclo reprodutivo dos Zygomycotas



Fonte: Livingstone, 1995.

Especificando a respeito do *Cunninghamella echinulata*, pesquisadores argumentam a designação do mesmo como fungo oleaginoso com eficiência no acúmulo de lipídios microbianos e, posteriormente mediante análises, capaz não apenas de tratar águas residuárias como também produzir lipídios microbianos, óleos unicelulares e colher de maneira eficaz microalgas com características de formação de *pellets* sob necessidade de ser co-cultivado (solução de esporos) com células de algas em meio de microalgas (Wang *et al.*, 2007; Xie *et al.*, 2013; Papanikolaou; Aggelis, 2019).

2.3.2 Aspectos nutricionais e ambientais dos fungos

Considerados como seres heterotróficos, os fungos demandam de materiais orgânicos já formados como fonte de energia (através da respiração celular ou fermentação) e constituintes celulares, estruturando sua nutrição por absorção de nutrientes solúveis simples como consequência da rigidez apresentada na parede celular; além de apresentar habilidades importantes para sua sobrevivência como transporte diminuído ou impermeabilidade, efluxo, compartimentação intracelular e sequestro, transformação de valência (redução e oxidação de átomos) e precipitação intra e extracelular (formação de precipitados cristalinos ou amorfos)

(Molinaro, 2010; Iram *et al.*, 2013; Torres-Cruz *et al.*, 2018). A Tabela 5 destaca os principais componentes que conferem estrutura e funcionalidade a esses organismos, revelando a complexidade e a diversidade dos materiais que compõem suas paredes celulares.

Tabela 5 – Composição química da parede celular de fungos do Reino Fungi

Filo	Componentes Fibrilares	Componentes Matriciais
<i>Ascomycota/Mitospóricos</i>	Quitina β -(1-3)- β -(1-6)- glicanos	α -(1-3)- glicano Proteína Galactomano
<i>Basidiomycota</i>	Quitina β -(1-3)- β -(1-6)- glicanos	α -(1-3)- glicano Proteína Xilomano
<i>Zygomycota</i>	Quitina Quitosano	Ácido Poliglucurônico Proteína Glucuronomano
<i>Chytridiomycota</i>	Quitina Quitosano	β -glicano

Fonte: Adaptado de Deacon, 1997

Ainda se utilizando-se dos argumentos de Molinaro (2010), os fungos vivem em estado de saprofitismo, parasitismo, simbiose (líquens ou formação de micorrizas, por exemplo) ou mutualismo dado à ausência de clorofila e, conseqüentemente, o substrato forneça as substâncias já elaboradas indispensáveis à alimentação. Sendo assim, os mesmos podem ser classificados em:

- ❖ **Saprófitos Obrigatórios:** vivem exclusivamente em matéria orgânica morta, não podendo parasitar organismos vivos;
- ❖ **Parasitas Facultativos ou Saprófitos Facultativos:** capazes de causar doenças ou de viver em restos orgânicos, de acordo com as circunstâncias;
- ❖ **Parasitas Obrigatórios:** vivem exclusivamente atacando organismos vivos.

Dentre as substâncias para o desenvolvimento encontradas na natureza com ênfase das macromoléculas insolúveis, alguns compostos como monossacarídeos, alguns dissacarídeos, aminoácidos e vitaminas apresentam condições de entrar nas células sem modificações. Contudo, paralelamente, a incorporação direta de compostos como polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos, lignina, lipídeos dentre outros de grande peso molecular necessitam passar por distintos mecanismos para ser hidrolizados (digeridos) extracelularmente em nível de unidade monomérica solúvel para possibilitar a penetração na parede e membrana celular antes de alcançar o citoplasma (Galvagno; Forchiassin, 2010).

Do ponto de vista de Putzke (2004) e Ângelo (2010), estes organismos realizam a redução das moléculas através da secreção de biocatalisadores orgânicos denominadas de

exoenzimas como caso das enzimas hidrolíticas responsáveis pela catálise de reações de hidrólise de diversos substratos. Logo, apesar da existência comum de certas tipologias (com exemplo, proteases e endonucleases), alguns espécimes de fungos podem excretar distintas exoenzimas em condições de ambientes específicos.

Em relação ao Filo Zygomycota, são encontrados em formas de vida livre (como exemplo, *Pilobolus sp.*) e parasitas de plantas e animais ou simbioses. Quando proliferados na forma de vida livre e em relação simbiótica com raízes de plantas, os zigomicetos detêm a capacidade na geração de endomicorizas formando um envoltório ao redor do ápice radicular sendo responsáveis pela invasão do interior de células corticais das raízes de plantas (UFU, 2023).

Como representantes dos Mucorales, o fungo *C. echinulata* apresenta colônias de rápido crescimento cujo solo representa um dos principais habitats comumente isolados de matéria orgânica vegetal e animal em decomposição, solos e excrementos, com múltiplos micélios aéreos de aspecto cottonoso ou pulverulento sendo considerado um microrganismo saprófito capazes de sintetizar amilase, lipase, inulase, pectinase, renina, protease e outros metabólitos, capacidade de metabolizar uma ampla variedade de xenobióticos (Santiago; Souza-Motta, 2006; Andrade *et al.*, 2015; Khan; Murphy, 2021).

2.3.3 Fungos filamentosos no tratamento de efluentes

Reconhecidos como um dos principais organismos participantes de ciclagens de matéria orgânica no ambiente, os fungos filamentosos são considerados promissores para aplicação em tratamentos de efluentes dada sua tolerância à toxicidade ambiental, aproveitamento de compostos orgânicos constituintes de poluentes como fontes de carbono no seu processo de crescimento, habilidade de proliferação em ambientes desfavoráveis em mecanismos de extensas redes oriundas de micélios além da síntese de enzimas catalíticas. Essas características estão associadas à produção de múltiplas enzimas inespecíficas capacitadas na degradação de polímeros de origem vegetal e vastas moléculas orgânicas (Saroj, 2015; Rocha, 2015).

Dentre os principais setores conhecidos pelo uso de fungos no tratamento e/ou monitoramento de seus respectivos efluentes destacam-se:

- **Indústria Papeleira:** Aplicação de fungos caracterizados pela decomposição branca como *Trametes versicolor* devida capacidade de mineralização explicada produção de enzimas lignolíticas como lignina peroxidase (LiP), peroxidase dependente de

manganês (MnP), peroxidases e lacases (Esposito, Azevedo; 2010; Pinheiro *et al.*, 2020);

- **Indústria Têxtil:** Diversas pesquisas constataram a habilidade dos fungos no descolorimento e metabolização de corantes e azoderivados (item importante tendo em vista legislação quanto ao controle de liberação) apresentando potencial metabólico confirmado pela facilidade de mineralização dos produtos de degradação fúngica oriundos do tratamento de efluentes têxteis em processos como de lodo ativado. Além disso, detergentes oriundos de biossurfactantes produzidos de *Cunninghamella echinulata* alcançaram percentual de remoção em 86% do óleo de motor empregado em tecido de algodão mantendo a estabilidade da integridade estrutural da fibra (Esposito, Azevedo; 2010; Andrade *et al.*, 2018);
- **Controle de Poluição das Águas:** Amplo desempenho de fungos mitospóricos na decomposição de matéria orgânica em lagos e córregos em consequência da notória adaptação nos biossistemas inseridos e elevada resistividade a robustas concentrações metais pesados presentes no local. Pontua-se os resultados de bioabsorção dos fungos *Polyporus versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium* em estudos de Yetis *et al.* (1998) analisando metais pesados como cobre, cromo, níquel e chumbo (sendo este responsável pela máxima remoção em 57,5 e 110 mg Pb/g de biomassa seca, respectivamente).

2.3.4 *Cunninghamella echinulata* no tratamento de efluentes

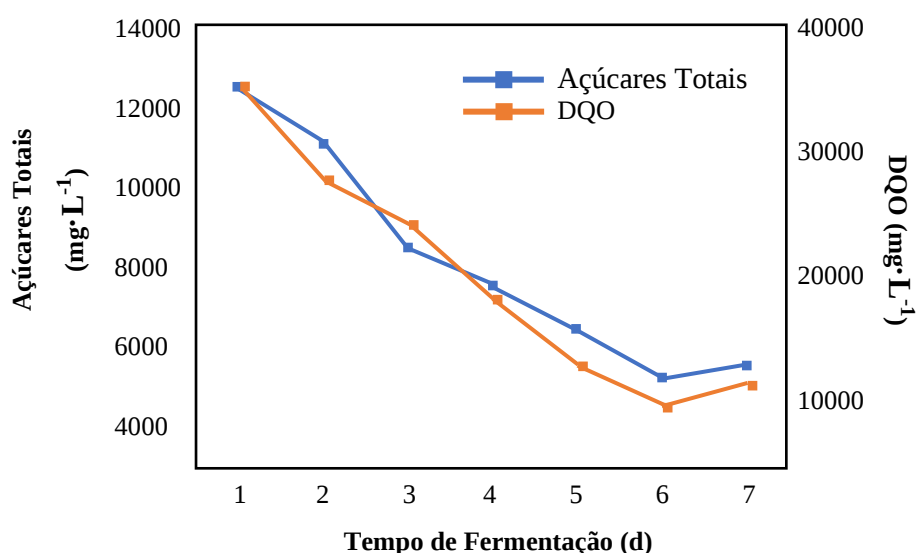
Com aplicação na biorremediação de petróleo bruto, Yehia (2023) promoveu estudos aplicando isolados fúngicos de *Cunninghamella echinulata* obtendo resultados positivos de metabolização do poluente analisado removendo cerca de 59,7%, redução da tensão superficial para 41,2 mN/m e atividade de emulsificação e hidrofobicidade determinadas em 36,7 e 44,9%.

Srinuanpan *et al.* (2018) utilizaram fungos filamentosos na coleta de microalgas *Tetrademus obliquus* e *Micractinium reisseri* além de analisar os lipídios oriundos do consórcio microalga-fungo acerca de suas propriedades de combustível avaliados com base nas composições de ácidos graxos. Os mesmos identificaram eficiências maiores do *C. echinulata* para ambos os objetivos estudados quantificados em 92,7% de floculação na captura das microalgas, $4,45 \pm 0,06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de biomassa e $1,21 \pm 0,08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de lipídios de *pellets* microalga-fungo.

Qiao *et al.* (2022) visando desenvolvimento de processos limpos na captura da levedura *Trichosporon fermentans* presentes em efluentes da refinaria de óleo de soja por meio da

característica de adsorção física apresentada pelo *C. echinulata* obtendo melhores resultados melhor adesão para a levedura quando cultivada a partir de água residual de soja (SW) ao invés do seu meio tradicional (água residual de fécula de batata) (PSW) onde o sistema de cultivo foi estabelecido utilizando 10 mL de solução de esporos de *C. echinulata* em 100 mL de PSW ou SW, temperatura igual a 30 °C e 200 rpm. Além disso, foi observado conforme elucidado no Gráfico 4, após 6 dias de fermentação, a remoção dos açúcares totais (teor inicial de $12.500 \pm 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e DQO (teor inicial de $35.000 \pm 2.000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) em cerca de $35,56 \pm 2,47\%$ e $40,41 \pm 1,91\%$ (condição de cultivo PSW) e $65,7 \pm 2,53\%$ e $62,79 \pm 1,53\%$ (condição de cultivo em SW).

Gráfico 4 – Remoção de açúcares totais e DQO em SW por fermentação de *C. echinulata*



Fonte: Adaptado de Qiao *et al.*, 2022.

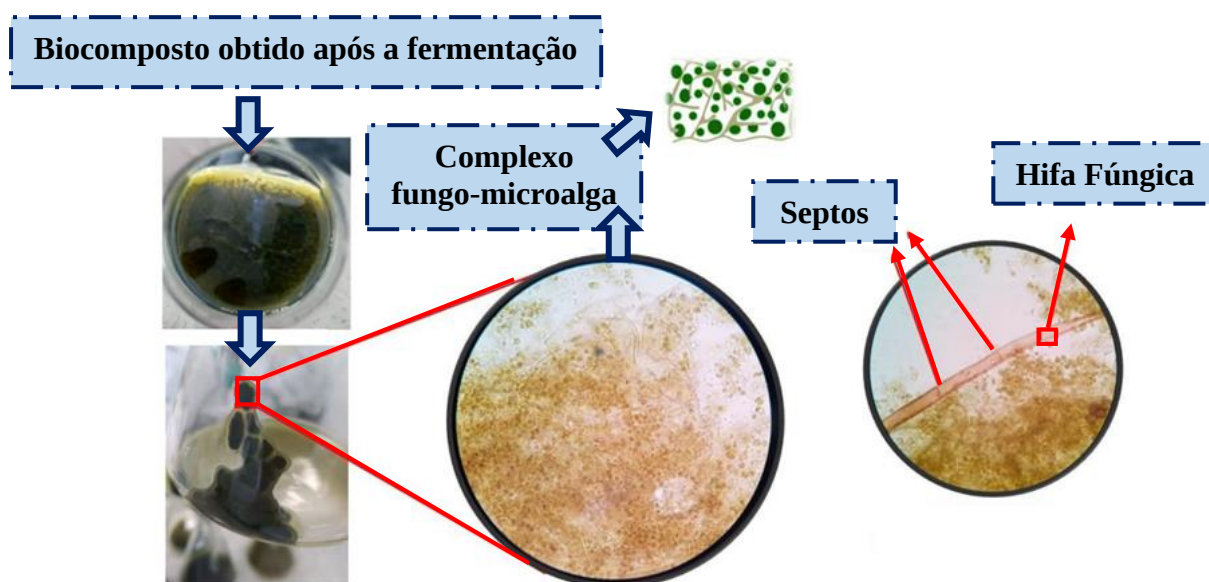
2.4 Co-cultivo de fungos filamentosos e microalgas no tratamento de efluentes

Diversos estudos promovem com base nas relações simbióticas, associação funcional estreita, harmônica e produtiva entre dois organismos os quais interagem de modo ativo visando ao proveito mútuo, a vinculação microalga-fungo sendo a formação líquen e *pellets* as mais notórias (Rajendran; Hu, 2016; Wang *et al.*, 2023; Qader, Shekha, 2023).

Conforme Campbell *et al.* (1998) e Mccune (2000), a divisão setorial autotrófica e heterotrófica dos líquens é caracterizado respectivamente pela presença de clorofila possibilitando a capacidade de captura de energia e promoção das funções celulares, e colonização de distintas áreas do biofilme facilitando o crescimento e desenvolvimento celular, estruturando dessa forma os líquens como estruturas tridimensionais em multicamadas.

Xie *et al.* (2013) e Wang *et al.* (2023) promoveram análises sobre o co-cultivo entre microalgas e fungos filamentosos respectivamente em processos de compressão de determinados materiais visando a formação *pellets* ou pastilhas (peletização) para extração de microalgas do meio líquido e para captação e tratamento de efluentes. Como resultado os mesmos identificaram um efeito de agregação de microalgas nas malhas das hifas fúngicas por adsorção e encapsulamento com crescimento na produção de biomassa isento da modificação na composição de lipídios fundamentando esse efeito sinérgico pela aplicação fúngica dos carboidratos na parede celular das microalgas além da constatação da funcionalidade dos *pellets* como transportadores de biomassa como apresentado na Figura 5.

Figura 5 – Agregação hifas fúngicas com a biomassa de microalgas



Fonte: Stefanski, 2020.

A referente agregação/aderência da microalga nas superfícies da hifa correspondem ao processo de biofloculação instaurado na formação de líquen conferindo o equivalente a mais de 60% dos produtos da fotossíntese microalgal eliminados pela célula com oferecimento de matéria orgânica sendo esse elemento requerido no crescimento dos fungos filamentosos que posteriormente estrutura proteção contra dessecação e facilidade para fixação (Tortora; Funke; Case, 2012).

Contudo, destaca-se a demanda do isolamento fúngico visando uma formação não axênica (aberto) com associação de interação dominante acerca de espécimes aptas a estabelecer possíveis contaminações do biorreator sendo esta formação associativa/sinérgica estabelecida por intermédio de mecanismos naturais no próprio sistema com co-cultivo entre

outras espécies já adaptadas ao meio tendo em vista os efeitos adversos ocasionado em situações de interação competitiva entre fungos e algas (Chu *et al.*, 2021).

Quando analisados com a tipologia tipo biofilme formado sob uma matriz de polipropileno (estabilidade mecânica da matriz) e algodão, os líquens apresentam determinadas características conforme Rajendran e Hu (2016):

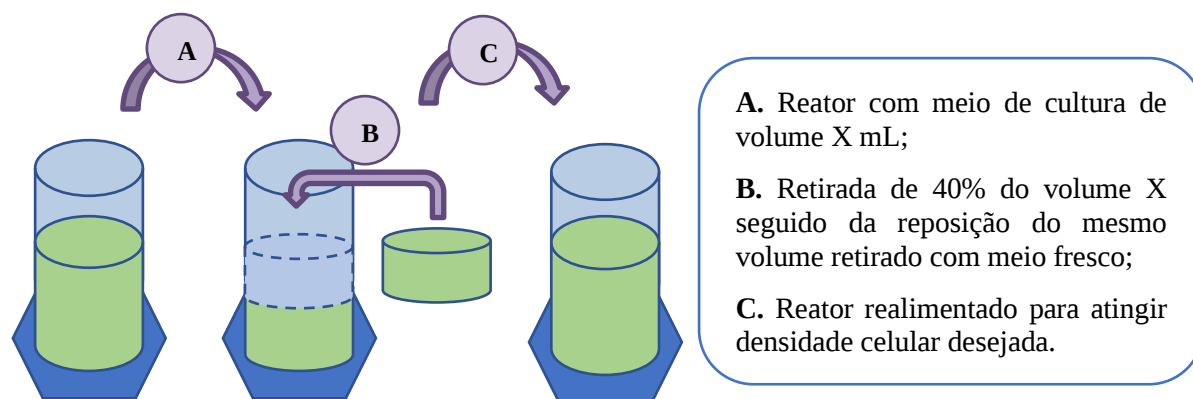
- **Ligação preferencial nas fibras:** Tendo em vista a relação entre condições hidrofóbicas e de espessuras mais grossas dos materiais envolvidos com a maior agilidade no desenvolvimento de biofilme, os esporos fúngicos (alto valor hidrofóbico) são aderidos em poucas horas na matriz enquanto as microalgas paralelamente vão se aderindo gradualmente as células fúngicas;
- **Germinação dos esporos de fungos:** Em decorrência da aderência fúngica-microalgal a matriz, inicia-se a propagação mútua originando formações de micro colônias sem notoriedade relevante do crescimento algal;
- **Alongamento e ramificação (formação de hifas):** Etapa de estruturação de redes hifais não diferenciadas desenvolvidas pela abrangência das células fúngicas entre as fibras de polipropileno e de tecido;
- **Maturação do biofilme:** Extensão da espessura do biofilme e conseqüentemente da aderência celular algal no micélio fúngico, com acúmulo de substâncias poliméricas extracelulares de maneira gradativa conforme o desenvolvimento de biofilme.

2.5 Sistema de tratamento semicontínuo

Reconhecido por seu extenso uso no cultivo tanto em ar livre quanto em laboratório além do setor comercial dada dificuldade em inocular novas células a cada ciclo, os sistemas de cultivo semicontínuo são particularizados pela coleta e retirada periódica de um determinado volume do caldo de cultura (iniciado a partir do dia em que a cultura atingiu densidade celular máxima dos microrganismos) seguido de reposição imediata do mesmo volume retirado de meio fresco para atingir a densidade celular desejada (Yang *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2022).

Dentre as vantagens oferecidas pelo respectivo sistema destacam-se a melhoria nos processos e resultados de manutenção do crescimento celular não obstante a limitação de nutrientes suficientes a obtenção de produtos de acúmulos (carboidratos e lipídios), minimização do sombreamento mútuo, aumento da concentração de nutrientes inseridos no meio de cultura e da eficiência da fotossíntese celular corroborando na maior produtividade de biomassa (Tan; Lee, 2016; Yu *et al.*, 2022; Long *et al.*, 2022).

Figura 6 – Esquemática do processo de reposição volumétrica em modo semicontínuo



Fonte: Autor, 2024.

Avanços tecnológicos na produção de lipídios por meio de cepas de microalgas desenvolvidas com objeto de acumular lipídios durante a fase de crescimento celular como exemplificam Ajjawi *et al.* (2017) após a identificação de fator de transcrição contendo o domínio de cluster binuclear $\text{Zn(II)}_2\text{Cys}_6$ em *Nannochloropsis gaditana* onde, quando regulamentada negativamente, resultou na duplicação da produção de biomassa.

Paralelamente, Südfeld *et al.* (2021) e Oyama *et al.* (2021), desenvolveram estudos semelhantes utilizando respectivamente cepa nocaute do fator de transcrição NO06G03670 em *Nannochloropsis oceanica* e *Chlamydomonas sp.* mutante KAC1801 oriundos de abordagens de mutagênese aleatória obtendo resultados positivos quanto o aumento no acúmulo de lipídios comparados a cepas parentais.

Conforme Sá Filho *et al.* (2023), a aplicação de *Tetrademus obliquus* em fotobiorreatores com aeração superficial a taxa de 0,5 vvm, temperatura entre 30-35 °C, intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e 40-50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de peso celular seco (inóculo) possibilitam resultados promissores na remoção de fosfato (concentração inicial $20,6 \pm 1,70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) presente em águas subterrâneas quando aplicado em sistemas de tratamento em modo de operação semicontínuo. Os mesmos constataram remoções 100% e 94% respectivamente para taxas de reposição volumétricas iguais a 40% e 60% com quatro ciclos de três dias cada após finalização de uma etapa preliminar de batelada com duração de sete dias visando o máximo crescimento microbiano no sistema.

De mesmo modo, Nagi *et al.* (2021) realizaram o tratamento de águas residuárias de coqueria (indústria de siderúrgicas) sob aplicação de consórcio microalgal (*Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum vitiosum*, *Chroococcus turgidus*, *Desmococcus olivaceus*, *Oocystis solitaria*, *Scenedesmus acutus* e *Scenedesmus dimorphus*) cultivadas em meio BG-11 em shaker configurado para agitação de 150 rpm, temperatura de 28 °C e ciclo claro:escuro de 16:8h

(4.000 lux), e inserida posteriormente em modo semicontínuo. Foi constatado remoções de 42,70% e 47,83% para amônia (NH_3 inicial de $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e cianeto (valor inicial de $9,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) em 10 dias de incubação.

Adicionalmente, Dos Santos *et al.* (2021) avaliaram o comportamento do cultivo de biomassa de *Chlorella minutissima* utilizando como meio de cultivo distintas frações lixiviados de aterro sanitário (5%, 10% e 15% v/v), água destilada e sal ($20 \text{ g}_{\text{NaCl}} \cdot \text{L}^{-1}$) em fotobiorreatores *airlift* operados em modo semicontínuo, 10% v/v de inóculo, intensidade luminosa de $125 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ e temperatura de 30°C . Foram identificaram maiores taxas na produção de biomassa quando adotados 10% v/v de lixiviados e fluxo de aeração de 0,45 vvm resultando em $87,7 \pm 1,80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ confirmando bom desempenho do sistema.

2.6 Legislação ambiental referente ao lançamento de efluentes em corpos hídricos

Caracterizado como grande responsável de fontes de degradação da qualidade e disponibilidade das águas superficiais, o descarte de efluentes em corpos hídricos lançados/carreados seja doméstico ou industrial resulta em poluições contínuas por exemplo de corantes heterocíclicos e metais pesados (Cu, Cr, As e Zn) para indústrias têxteis ou elevadas concentrações de matéria orgânica oriundo de indústrias de laticínios, demandando assim de fiscalizações e regimentos específicos para controlar esse tipo de problemática (Wang *et al.*, 2022).

Como legislação vigente em território brasileiro tem-se a Resolução CONAMA nº 430/2011 dispondo sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (Brasil, 2011). Dentre os parâmetros definidos para análises no presente projeto, essa resolução abrange apenas limites de lançamento para Nitrogênio Total ($20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e pH entre 5 e 9.

Apesar da não determinação de valores limites na concentração de DQO e FT na resolução CONAMA 430/2011, é possível verificar a liberação para definição de padrões de lançamento em órgãos ambientais competentes para os respectivos parâmetros. É possível exemplificar os estados como Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro. Para Minas Gerais, por intermédio da Deliberação Normativa Conjunta COPAM-CERH/MG nº 8 de 21 de novembro de 2022 determina valor máximo para DQO de $180 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ exceto nos casos de efluentes gerados por indústrias têxteis ($250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), efluente final de tratamento de sistemas de lixiviados de aterros sanitários municipais (eficiência de redução em 70% e média anual de

75% ou mais) ou demais sistemas de tratamentos (eficiência de redução em 80% e média anual de 85% ou mais).

Em contrapartida, o Conselho Estadual de Meio Ambiente do Rio de Janeiro com base na Resolução CONEMA n° 90 de 08/02/2021 determina dentre outros parâmetros de padrões de lançamento para estações de tratamento de esgoto sanitário que recebem lixiviado de aterro sanitário de resíduos sólidos urbanos o valor máximo dos níveis de DQO na ordem de 180 mg·L⁻¹.

Sendo assim, a gestão ambiental dos recursos hídricos requer o estabelecimento de padrões rigorosos para o lançamento de efluentes em corpos d'água. A Tabela 6 a seguir apresenta os principais parâmetros e limites permitidos para o descarte de efluentes além de promover a comparação com outros países, fornecendo uma referência importante para controle das atividades que impactam os recursos hídricos.

Tabela 6 – Padrões de lançamentos determinados em múltiplas legislações/normativas

Legislação	DQO (mg·L⁻¹)	Fósforo Total (mg·L⁻¹)	Nitrogênio Total (mg·L⁻¹)	pH
Resolução CONAMA 430/2011	-	-	20	5 a 9
Diretiva do Conselho 98/15/CE (União Europeia)	125	1-2	10-15	-
Resolución n° 222/02 (Paraguai)	150	4	40	6 a 9

Fonte: Brasil, 2011; União Europeia, 1998; Paraguai, 2002.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Inicialmente, a metodologia consistiu em coletar o efluente estudado (soro do leite) 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), nitrogênio total (mg N·L⁻¹) e fósforo total (mg P·L⁻¹). Após isso, realizou-se experimentos em batelada para delimitar o tempo de tratamento e taxas de remoção dos contaminantes utilizando a simbiose microalga-fungo. Após isso, se foi aplicado o tratamento do efluente em modo semicontínuo, buscando um aumento de produtividade seja no tempo de remoção de contaminantes, seja na produção volumétrica de biomassa.

3.1 Efluente Bruto

O soro do leite foi coletado no Instituto Federal de Alagoas – Campus Satuba (9°34'29.08"S 35°49'15.25"O) em março de 2023, 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 (tratamento primário) para remoção apenas da parte líquida solúvel, e por fim; o efluente foi congelado (-18 a -12°C).

3.2 Caracterização do Efluente Bruto e Tratado

Baseado em análises experimentais explicitadas posteriormente no item 3.6, foram determinados os dados característicos das distintas cargas orgânicas do soro do leite utilizados no presente projeto antes e depois dos processos de tratamento impostos conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 7 - Caracterização físico-química do soro do leite

Carga Orgânica	Parâmetros do Soro do Leite			
	DQO (mg O ₂ ·L ⁻¹)	NT (mg N·L ⁻¹)	FT (mg P·L ⁻¹)	pH
Efluente Bruto	67.014,48 ± 1425,84	1.377,05 ± 68,85	625,60 ± 1,42	3,48 ± 0,17
C1	6.355,60 ± 32,10	77,32 ± 0,03	52,61 ± 0,05	
C2	2.370,46 ± 26,73	37,50 ± 0,14	21,95 ± 0,11	
C3	1.176,32 ± 8,91	21,90 ± 0,03	12,32 ± 0,07	

Fonte: Autor, 2024.

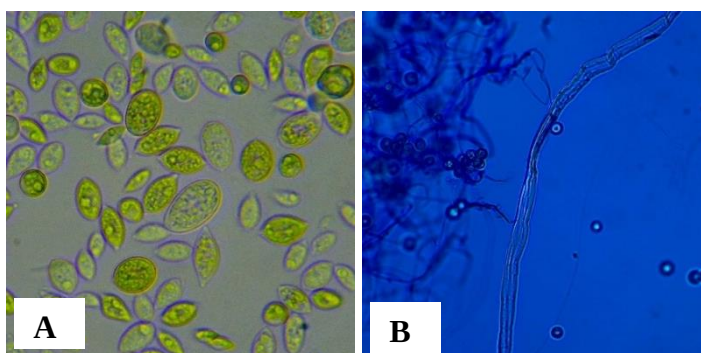
3.3 Espécies de Fungo Filamentoso e Microalga

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

A espécie de fungo filamentoso usado foi *Cunninghamella echinulata* (Thaxt) URM 7150, adquiridas frente a Micoteca URM da Universidade Federal de Pernambuco, mantida em meio BDA (Batata Dextrose Agar), esterilizado à 121°C, 1 atm por 15 min em autoclave. Após seu crescimento, durante um período médio de 10 dias, os esporos foram coletados por uma solução estéril de Triton 0,1% (v/v) para formar a suspensão de esporos, a qual teve sua concentração determinada a partir do procedimento de contagem em câmara de Neubauer.

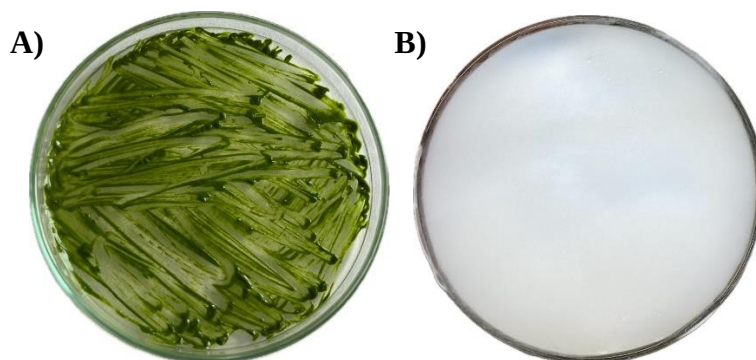
A Figura 6 e 7 exibem detalhes morfológicos importantes dos respectivos microrganismos e os modos de manutenção adotados durante o experimento.

Figura 7 – Microscopia da microalga *Tetradismus sp.* LCE-01 (A) e do fungo filamentoso *Cunninghamella echinulata* (B) com um aumento de 100x



Fonte: Autor, 2024.

Figura 8 – Meios de manutenção para a microalga (A) e o fungo filamentoso (B)



Fonte: Autor, 2024

3.4 Sistema de Tratamento

A configuração utilizará frascos vítreos cilíndricos Drechsel de 500 mL (60 mm de diâmetro externo), os quais simulam o comportamento de um reator tubular aerado, e receberam 400 mL de volume útil. Houve o fornecimento de iluminação artificial lateral (Plafon LED 25W 6500K) medida com um radiômetro Delta Ohm 2302.0 de $100 \mu\text{mol fótons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. O sistema foi aerado com o uso de um compressor (JEBO 660, $2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) a uma taxa de 1,5 vvm conforme exposto na Figura 8.

Figura 9 – Modelo adotado para simulação de reator tubular aerado

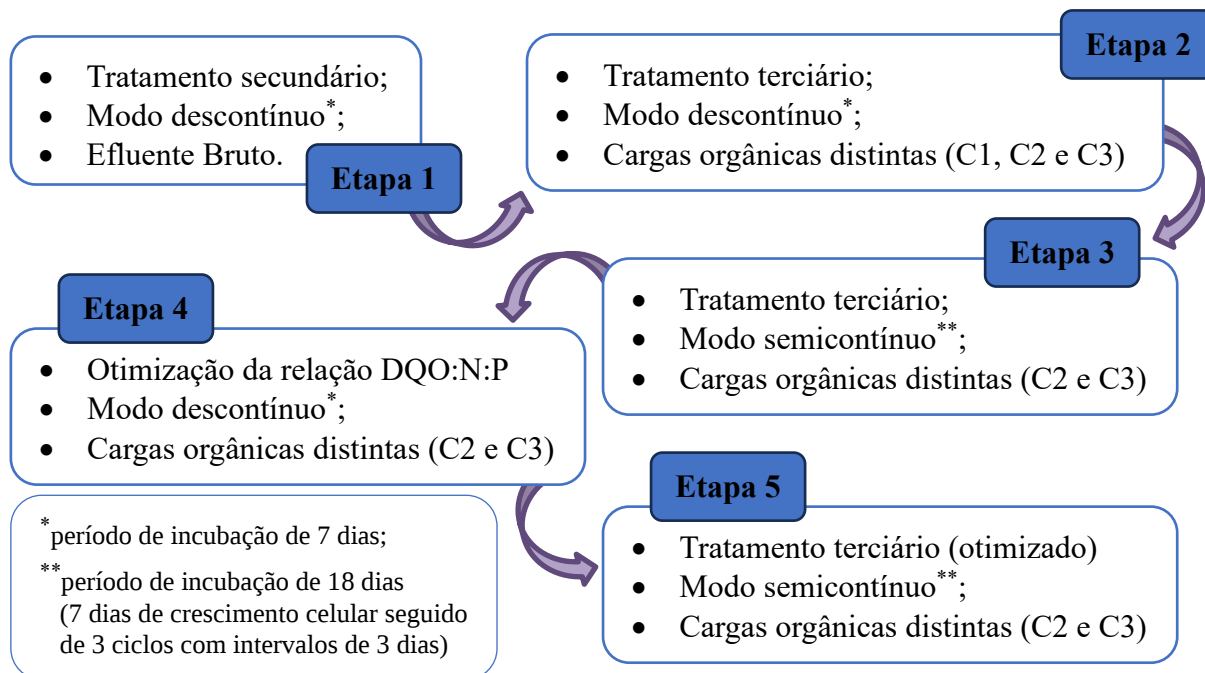


3.5 Experimentos Realizados

O desenvolvimento da parte experimental desse estudo foi realizado em 5 etapas. Inicialmente, em modo batelada, o tratamento do efluente real (soro do leite) até a obtenção de concentrações reduzidas de contaminantes (uma DQO entre $1000\text{--}3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (tratamento secundário) (Etapa 1) de modo a poder ser aplicado o tratamento terciário para adequação à legislação (Etapa 2).

Após isso, foi aplicado o sistema semicontínuo no tratamento avançado do efluente para otimização do processo (Etapa 3), e em seguida, estudou-se a relação DQO:N:P ou DQO:NT:FT (demanda química de oxigênio:nitrogênio total:fósforo total) de modo a verificar se algum dos contaminantes estava atuando como limitante (Etapa 4). Por fim, aplicou-se o modo semicontínuo com o efluente na melhor relação DQO:N:P (Etapa 5).

O pH dos biorreatores foi mantido entre 7 e 7,5 (Yang, Lin e Wang; 2022), de modo a atender as exigências sejam da microalga que do fungo. Houve em toda sequência analítica a operação dos biorreatores com os efluentes em condições similares ao utilizado para o consórcio, mas sem a inserção dos microrganismos (controle). 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).

Figura 10 – Esquematização das etapas experimentais adotadas

Fonte: Autor, 2024.

3.5.1 Etapa 1 - Avaliação do tratamento secundário do soro do leite por consórcio microalga-fungo sob modo descontínuo

Esta etapa teve como intuito obter altas reduções na concentração de DQO e dos outros contaminantes alcançado assim o efluente do tratamento principal (secundário) do soro do leite na ordem entre 1200 e 2600 mg·L⁻¹ para aplicação nas seguintes etapas e estruturação definida de um tratamento avançado completo (fase primária, secundária e terciária).

Para isso, foram montados dois sistemas de tratamento utilizando efluente de carga orgânica do efluente bruto sendo um com aplicação do consórcio microalga-fungo (5 alçadas de microalga, para obter em torno de 50 mg·L⁻¹ e 1,08.10⁶ esporos·mL⁻¹ para os fungos filamentosos) e outro utilizando apenas contaminantes exógenos (controle). O processo de tratamento foi estabelecido utilizado 400 mL do efluente bruto com coletas diárias de amostras durante um período de 10 dias, intensidade luminosa de 100 μmol·m⁻²·s⁻¹ e aeração de 1,5 vvm.

3.5.2 Etapa 2 - Tratamento terciário pelo consórcio microalga-fungo do efluente do soro do leite em modo descontínuo

Visando o tratamento do soro do leite em condição de fase terciária com obtenção de concentrações residuais dos referentes poluentes dentro das conformidades legislativas nacionais além das especificadas na União Europeia (mais rigorosa) (Diretiva UE 1998/15/CE, 1998), essa etapa foi desenvolvida com a montagem de sistemas para três cargas orgânicas (C1, C2 e C3) com volume de 400mL, consórcio microalga-fungo, intensidade luminosa e aeração

como especificado no item 3.5.1. O tratamento ocorreu por um período de 7 dias com coletas diárias.

3.5.3 Etapa 3 - Tratamento terciário em modo semicontínuo do efluente do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo

Semelhante ao exposto anteriormente, essa etapa consistiu na operação do processo em modo semicontínuo utilizando-se as cargas orgânicas C2 e C3 com as mesmas configurações elucidadas no item 3.5.2, aplicando-se tempos de realimentação de 3 dias e taxas de reposição volumétrica de 40 e 60%.

3.5.4 Etapa 4 - Otimização da relação DQO:N:P no tratamento terciário do efluente do soro do leite em modo descontínuo

Considerando argumentos expostos em experimentos com essa tipologia de sistema como Mohd Hanafiah *et al.* (2019), Dong (2021) e Leng *et al.* (2021) essa etapa visa a otimização do sistema em termos de relação DQO:N:P para melhorias na eficiência de remoção dos poluentes analisados no presente projeto além de aumento na produção de biomassa microbiana. Sendo assim, foram montados para cada carga orgânica (C2 e C3) os sistemas de tratamento sob as mesmas configurações descritas no item 3.5.2 diferindo apenas de suplementações utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (sulfato de amônia) de maneira a atingir relações DQO:N equivalentes a 20, 30, 40 e 50. Além disso, conseqüentemente cada sistema foi submetido respectivamente a relações N:P equivalentes a 2, 2,5, 3 e 4.

3.5.5 Etapa 5 - Tratamento terciário do efluente do soro do leite sob modo semicontínuo em condições otimizadas de relação DQO:N:P

Essa etapa consistiu em realizar o tratamento do efluente condicionado a melhor relação DQO:N:P avaliada na etapa anterior com a montagem de sistemas com as cargas C2 e C3 sob as mesmas configurações descritas no item 3.5.3.

3.6 Análises realizadas

Os principais parâmetros utilizados na caracterização dos efluentes serão demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total (NT) e fósforo total (FT). As amostras após serem coletadas passaram por centrifugação a 3500 rpm por 30 min (Centrifuga ACB Labor Dry-Bloch) para separar a fase sólida (lodo microbiano) da líquida, onde os contaminantes são medidos. Em seguida, principalmente para determinação da DQO, as amostras passaram em filtros de PES (polietersulfona) hidrofílico e de acetato celulose de 0,45

e 0,22 μm , respectivamente; para eliminar eventuais sólidos que possam não ter sido eficientemente removidos na centrifugação e que afetam as análises.

3.6.1 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.

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

Foi utilizado o método de digestão com dicromato (AOAC, 2002) no qual os tubos de ensaio foram lavados com H_2SO_4 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). Os tubos foram, então agitados e colocados no bloco digestor a 150 °C por 2 h. 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 $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ de DQO (Shimadzu, UVmini 1240).

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.

3.6.3 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 frasco Erlenmeyer de 250 mL, o qual continha 25 mL de ácido bórico 4%, 2 gotas do indicador vermelho de metila 0,25% e 2 gotas do indicador verde de bromocresol 0,2%. A destilação ocorreu até que fosse recolhido um volume de destilado de aproximadamente 100 mL. Por fim, a solução do erlenmeyer foi titulada com ácido clorídrico 0,001 N padronizado até o aparecimento da coloração rosada.

Cálculo:

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

Onde:

V_{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.

3.6.4 Fósforo total (Método do ácido ascórbico)

Será utilizado o 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:

$$\text{Fósforo Total (FT) (P) (} \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{)} = 10,189 * Abs * Diluição \quad (4)$$

Onde:

Abs = Valor da Absorbância obtida em espectrofotômetro;

$Diluição$ = Diluição da amostra.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A apresentação dos resultados será apresentada de forma sequencial buscando partir do efluente bruto até a obtenção de um processo de tratamento terciário otimizado em modo semicontínuo. Para tanto, buscou-se realizar o tratamento secundário até a obtenção de concentrações de contaminantes viáveis para aplicação de uma etapa de polimento (tratamento terciário) seguido da aplicação de um modo semicontínuo para otimização do tempo de tratamento sem necessidade de adição de inóculo.

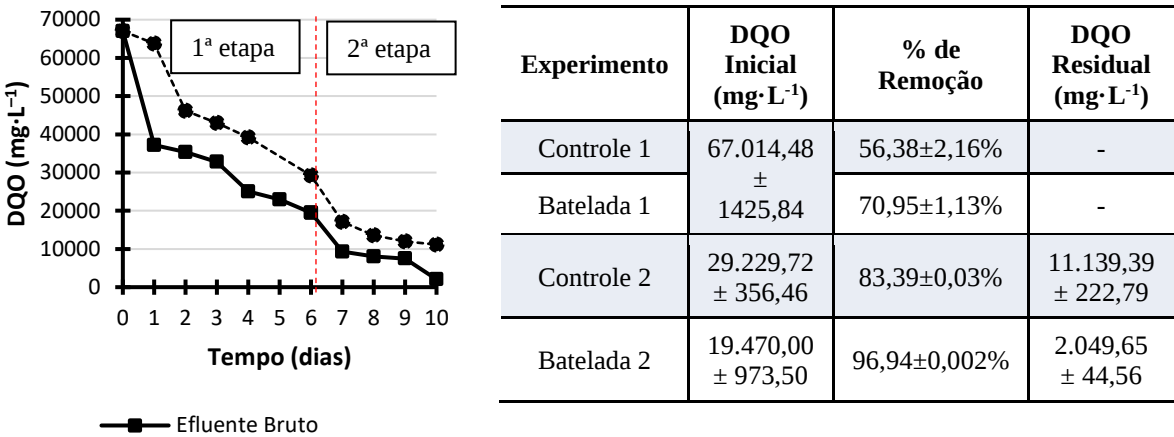
Verificando que houve limitação principalmente de nitrogênio durante o processo de tratamento, realizou-se suplementação de nitrogênio total em forma de sulfato de amônio, obtendo-se diferentes relações de DQO:N:P, e após delimitar a melhor relação, aplicou-se o processo semicontínuo, avaliando-se as concentrações residuais de contaminantes conforme os padrões de lançamento exigidos.

4.1 Avaliação do tratamento secundário do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo sob modo descontínuo

A busca por soluções sustentáveis no tratamento de efluentes tem impulsionado o desenvolvimento de tecnologias inovadoras, como a combinação de microalgas e fungos. Como efeito disso, a presente etapa consistiu na avaliação do tratamento do soro do leite visando alcançar reduzidas concentrações de poluentes para que se pudesse estudar a etapa de polimento ou seu tratamento avançado ou terciário, verificando quantas etapas seriam necessárias para tratar esse efluente até atingir os padrões de lançamento exigidos.

Como exposto no Gráfico 5, a aplicação do tratamento biológico secundário (principal) utilizando consórcio *T. obliquus* e *C. echinulata* foi possível em 2 etapas sequenciais em batelada. Para a remoção de DQO no soro do leite inicial, caracterizado com carga orgânica de $67.014,48 \pm 1425,84 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ possibilitou obter resultados ao final da 1ª etapa de tratamento (durante 6 dias) concentração de $19.470,00 \pm 973,50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e, ao final da 2ª etapa obtendo valor residual de $2049,65 \pm 44,56 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (em 4 dias), concretizando um percentual de remoção de 96,94%.

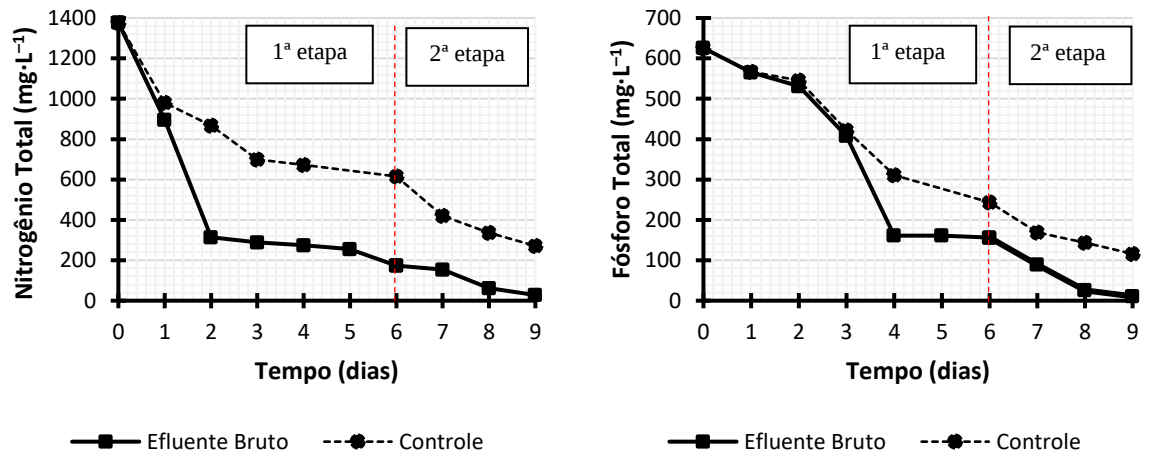
Gráfico 5 – Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga-fungo na remoção de DQO do soro do leite durante o tratamento secundário



Fonte: Autor, 2024.

Relativo à remoção de demais contaminantes (NT e FT) nas duas etapas iniciais (tratamento secundário ou principal) obteve-se percentuais de remoção de 97,97% e 98,28% respectivamente; alcançando níveis de concentração de $27,99 \pm 1,00 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ e $10,76 \pm 0,28 \text{ mg P} \cdot \text{L}^{-1}$, conforme ilustrado no Gráfico 6.

Gráfico 6 – Desempenho da remediação realizada pelo consórcio microalga-fungo na remoção de NT e FT do soro do leite durante o tratamento secundário



Fonte: Autor, 2024.

Vale ressaltar o desempenho inferior no tratamento realizado em sistema controle alcançando percentuais de remoção equivalentes a 83,39%, 82,72% e 81,45% para os parâmetros DQO, NT e FT comprovando que, apesar do alto poder biodegradante do efluente, a aplicação do consórcio microalga-fungo possuiu melhor desempenho. Os teores residuais no sistema controle foram de $11.139,39 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \pm 222,79 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $237,90 \pm 11,89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $116,06 \pm 0,28 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente.

Alusivo a experimentos baseados no tratamento do efluente soro do leite bruto condicionado a tecnologia de célula de combustível microbiana, Zonfa *et al* (2023) e Andrade *et al* (2014) promoveram estudos quanto ao tratamento do efluente bruto (secundário) e em tratamento terciário respectivamente com níveis de DQO inicial equivalente a $80.106 \pm 157 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ com eficiência de remoção de 86% (DQO residual de $11.214,84 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), enquanto que após a aplicação do tratamento terciário obteve-se concentrações residuais para DQO, NT e FT de $2.937,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $49,8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $36,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ após utilização de biorreatores de membrana seguidos de nanofiltração com 60 dias de retenção do lodo e tempo de retenção hidráulica de 6h. Destaca-se que os valores residuais obtidos são próximo ao obtido na presente etapa.

Experimentos parecidos foram elaborados por Pires *et al.* (2022) para o tratamento de águas residuárias do soro do leite não coagulado durante o processo de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* em meio de cultivo BBM (*Bold's Basal Medium*) num período de incubação de 7 dias. Aplicando o tratamento em efluentes de concentração inicial para DQO e NT respectivamente de $49.470 \pm 1,06 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $2.016 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, o processo de tratamento obteve remoções de 24% (DQO residual de $37.597,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 16% (NT residual de $1.693,44 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), bem inferior ao obtido nesse trabalho.

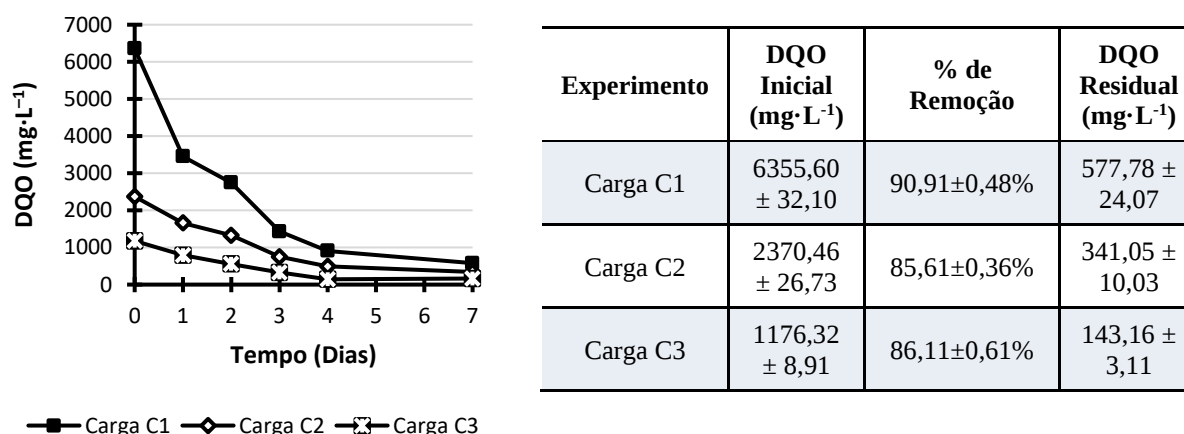
Dessa maneira, apesar de alcançar altos percentuais de remoção, pode-se constatar a presença de teores residuais não abrangentes aos limites de lançamentos registrados nas legislações nacionais e internacionais para os parâmetros DQO, NT e FT como relatado nas pesquisas abordadas anteriormente assim como nos resultados obtidos na presente etapa. Sendo assim, tendo em vista a necessidade de tratamentos caracterizados como etapa de polimento/tratamento terciário para cumprir requisitos ambientais mesmo após ser submetido a fases primária (centrifugação e filtração) e secundária (tratamento com o consórcio microalga-fungo) conforme argumentos de El-Bestawy *et al* (2023), essa etapa confirmou a necessidade de executar processo de tratamento avançado ou terciário.

4.2 Avaliação do tratamento terciário em modo descontínuo pelo consórcio microalga-fungo

A presente etapa consistiu na realização do tratamento avançado do efluente do tratamento secundário e buscou avaliar a capacidade do sistema em remover os contaminantes-chave (DQO, NT e FT), de modo a atender os padrões de lançamento exigidos.

Como visualizado no Gráfico 7, foi verificado altas remoções dos níveis de DQO em todas as cargas orgânicas estudadas. Vale pontuar remoções mais significativas de DQO ocorreu até o 3º dia de tratamento seguindo de certa estabilidade na queda da concentração do poluente com alcance ao final do 7º dia de tratamento, verificando-se concentrações residuais de $577,78 \pm 24,07 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (remoção de 90,91%), $341,05 \pm 10,03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (remoção de 85,61%) e $143,16 \pm 3,89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (remoção de 86,11%) para C1, C2 e C3, respectivamente. Para os respectivos controles, obteve-se percentuais de remoção de 54,96%, 38,35% e 40,15%, respectivamente, mostrando que embora o sistema não axênico, necessita-se da inserção dos microrganismos para efetivo tratamento.

Gráfico 7 – Desempenho do tratamento terciário em modo descontínuo do efluente do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo na remoção de DQO

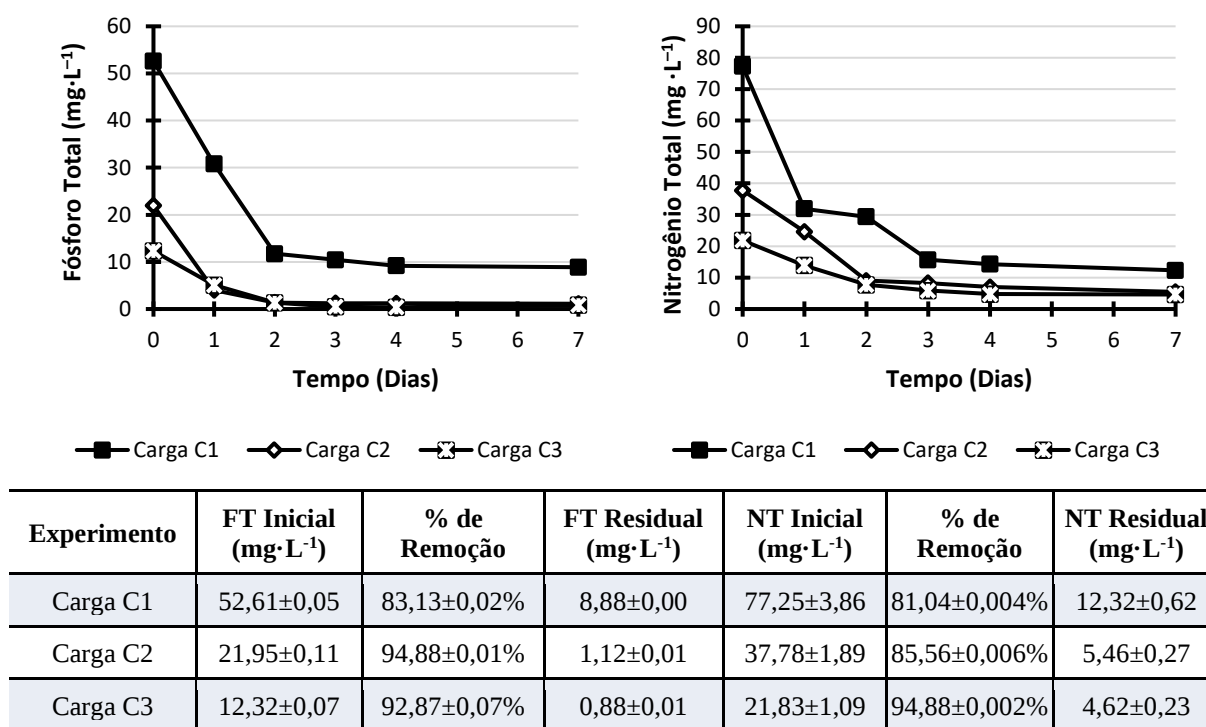


Fonte: Autor, 2024.

Relativo a NT e FT (Gráfico 8), foi possível constatar um comportamento diferente quando comparado ao parâmetro DQO tendo em vista que a maior remoção desses contaminantes ocorreu até o 2º dia de tratamento (exceto para NT na condição de carga C1). Para FT, o sistema de consórcio microalga-fungo alcançou percentuais de remoção igual a 83,13%, 94,88% e 92,87%, destacando-se concentrações residuais de $8,88 \pm 0,00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $1,12 \pm 0,01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $0,88 \pm 0,01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, para as cargas C1, C2 e C3, respectivamente. Em paralelo, o parâmetro NT resultou em percentuais de remoção de 81,04%, 85,56% e 78,85% com valores residuais de $12,32 \pm 0,61 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $5,46 \pm 0,27 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $4,62 \pm 0,23 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, para as cargas C1, C2 e C3, respectivamente.

C2 e C3, respectivamente. Para o sistema controle, percentagens de remoção para NT foram de 42,62%, 39,55% e 40,58% e para FT de 49,59%, 57,46% e 30,73%, considerando-se C1, C2 e C3, respectivamente.

Gráfico 8 – Desempenho do tratamento terciário em modo descontínuo do efluente do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo na remoção de NT e FT



Fonte: Autor, 2024.

De acordo com argumentos de Lee e Lei (2022) e Vidya *et al.* (2021), tal desempenho obtido durante o processo de remoção de NT e FT pode ser justificado pelas características presentes nas microalgas de assimilação de nitrogênio e fósforo orgânico e inorgânico e posterior utilização durante seu crescimento. Quando aplicados no consórcio microalga-fungo, tem-se então a participação do fungo como mecanismo de suprir o CO₂ utilizado na fotossíntese além de funções de armazenamento de água e dispor de maior área de superfície para recepção de minerais absorvidos pela microalga, além da degradação de maiores partículas de matéria orgânica em porções menores possibilitando assim o consumo dos mesmos pelas microalgas e consequentemente no favorecimento em seu crescimento (Zhao *et al.*, 2019).

Por outro lado, a obtenção de elevadas taxas de remoção de DQO em tratamentos biológicos utilizando microalga-fungo, como explicita Leng (2018), é dado pelo crescimento heterotrófico ou mixotrófico dos fungos e microalgas havendo a utilização do carbono inorgânico ou orgânico presente nos efluentes ou resultantes do metabolismo respiratório aliado

a possível degradação da matéria orgânica por meio de enzimas extracelulares produzidas pelos fungos (Chu *et al.*, 2021).

Promovendo uma análise comparativa a pesquisas semelhantes, Dong *et al.* (2022) ao estudar a eficiência na aplicação do consórcio microalga-fungo-bactéria no processo de remoção de DQO, NT e FT da pasta de biogás obtida em reator de digestão anaeróbica, utilizaram duas configurações compostas de *Chlorella vulgaris*-*Ganoderma lucidum* (T1) e *Scenedesmus obliquus*-*Pleurotus ostreatus* (T2) além da cepa bacteriana endofítica S395-2 em ambos os sistemas. Com níveis iniciais de $1.184,26 \pm 10,35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $123,77 \pm 7,64 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $19,05 \pm 1,57 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, foram constatadas melhores eficiências na condição T1 alcançando após 10 dias de incubação, percentuais de remoção na ordem de $76,89\% \pm 6,71$ (DQO residual de $273,68 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), $79,15\% \pm 7,24$ (NT residual de $25,80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e $83,65\% \pm 7,37$ (FT residual de $3,11 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), respectivamente.

Quian *et al.* (2022) analisaram o potencial tratamento de efluentes oriundos da digestão anaeróbica de indústrias de suinocultura caracterizados com cargas orgânicas iniciais de DQO, NT e FT respectivamente de $3.000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $380 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $21 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, utilizando a simbiose entre *Chlorella pyrenoidosa* e *Lichtheimia ornata* sob condições de pH igual a 7,0 e resultando reduções máxima após 4 dias de incubação para um residual de $700 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para DQO, 3 dias e residual de $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para NT e 5 dias e residual de $14 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para FT.

Entrando no espectro internacional, o presente trabalho focou nas diretrizes restritivas determinadas pela União Europeia através da Diretiva do Conselho 98/15/CE no qual estipula valores máximos de $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ou maior igual a 75% de eficiência para DQO, $15 \text{ mg N}\cdot\text{L}^{-1}$ (10.000 – 100.000e. p.) ou $10 \text{ mgN}\cdot\text{L}^{-1}$ (mais de 100.000e. p.) ou maior igual a 70-80% de remoção para NT, $2 \text{ mg P}\cdot\text{L}^{-1}$ (10.000 – 100.000e. p.) ou $1 \text{ mg P}\cdot\text{L}^{-1}$ (mais de 100.000e. p.) ou maior igual a 80% de eficiência para FT e, por fim, sendo “e. p.” relativo a “equivalente de população”. Acresce ainda como exemplo a adotada em Paraguai com a *Resolución* nº 222/02 definido níveis máximos de lançamento para DQO, NT e FT equivalente a $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $40 \text{ mgP}\cdot\text{L}^{-1}$ e $4 \text{ mgN}\cdot\text{L}^{-1}$.

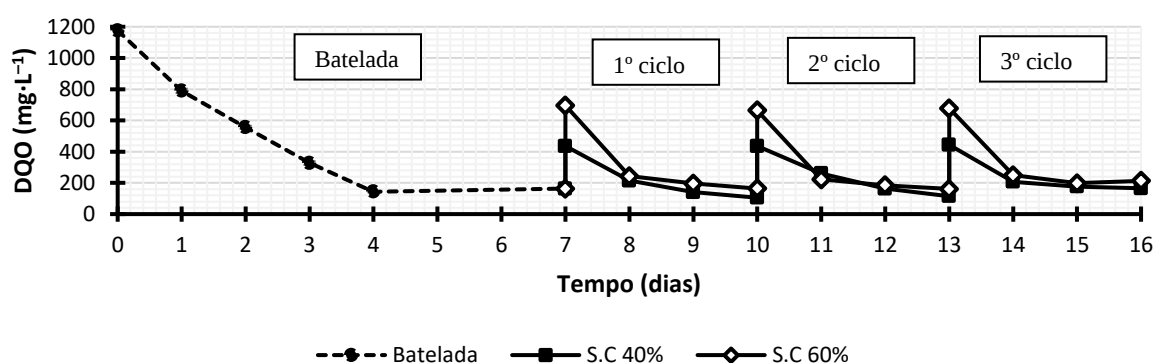
Ressalta-se que essas concentrações ainda estão elevadas considerando os padrões de lançamento exigidos. Nesse estudo, para C2 e C3, obteve-se concentrações residuais de acordo com os padrões de lançamento, principalmente para C3, pois para FT seria necessário valores $< 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, para maior efetividade.

4.3 Avaliação do tratamento terciário em modo semicontínuo do efluente do soro do leite pelo consórcio microalga-fungo

Levando em consideração os resultados dos experimentos anteriores, para presente etapa foi considerado montar experimentos configurados apenas para o efluente de carga C3 com a justificativa de ser o único a apresentar concentrações residuais em conformidade com os padrões de lançamento. Esta etapa consistiu em reduzir ainda mais os níveis de poluentes residuais com ênfase na análise da estabilidade e viabilidade do sistema microalga-fungo no tratamento do soro do leite em modo de operação semicontínuo e na remoção dos contaminantes-chave DQO, FT e NT ao longo de um menor tempo de operação ajustando-se a taxa de reposição volumétrica (TRV) entre 40 e 60%.

Conforme elucidado no Gráfico 9, apesar de considerados a constante eficiência do sistema mesmo após 3 ciclos de reposição, não houve redução significativa quando comparado ao valor residual do sistema quando submetido ao modo de operação descontínuo. O experimento aplicado a carga C3, para TRV de 40% do volume total, obteve percentual de remoção em média de 75,89% ao final do primeiro ciclo com DQO inicial e residual respectivamente de $435,69 \pm 7,78$ e entre $105\text{--}165 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mostrando que apesar de significativa redução, a eficiência precisa ser melhorada para estar $< 125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para TRV de 60% o sistema não conseguiu suportar o mesmo desempenho obtendo DQO residual entre $165\text{--}200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Gráfico 9 – Desempenho em semicontínuo pelo consórcio microalga-fungo na remoção de DQO da carga C3. S.C - Semicontínuo



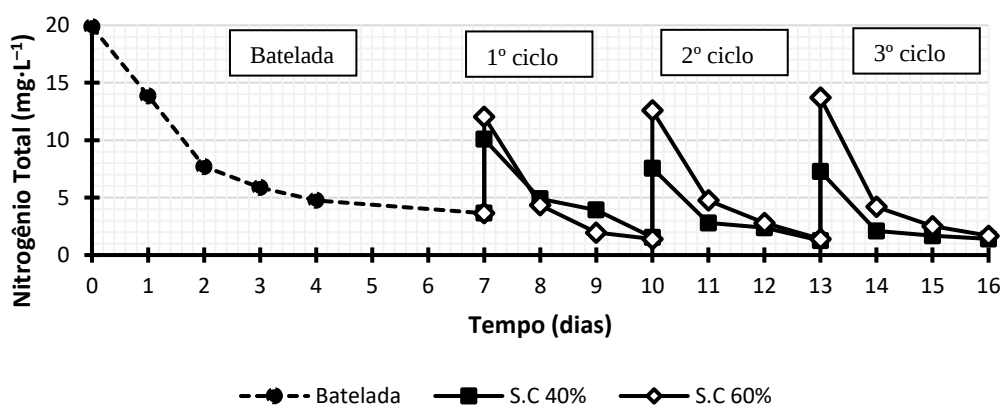
Experimento	Ciclo	% de Remoção	DQO Residual ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Experimento	Ciclo	% de Remoção	DQO Residual ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
Semicontínuo 40%	1	$75,89 \pm 0,02\%$	$105,03 \pm 1,94$	Semicontínuo 60%	1	$76,43 \pm 0,32\%$	$164,16 \pm 2,00$
	2	$73,57 \pm 0,12\%$	$115,14 \pm 1,55$		2	$75,68 \pm 0,04\%$	$161,49 \pm 1,67$
	3	$62,71 \pm 0,71\%$	$165,50 \pm 1,33$		3	$68,47 \pm 0,44\%$	$197,57 \pm 1,33$

Fonte: Autor, 2024.

Pelo Gráfico 10, em relação ao NT, referido a um TRV de 40% foi alcançado resultados de remoção e concentrações residuais entre 81-85% e 1,26-1,54 mg·L⁻¹, respectivamente. Valores semelhantes foram obtidos para uma TRV de 60%. Se tratando de FT (Gráfico 11), percentuais de remoção e concentração residual se situaram entre 82-93% e 0,82-0,31 mg·L⁻¹, respectivamente; para uma TRV de 40%. Para uma TRV de 60%, valores residuais 1,8-3,5 mg·L⁻¹, sendo considerado ineficiente para os padrões de tratamento exigidos. Verificados os valores residuais muito baixos, principalmente para NT, levantou-se o questionamento de poder estar limitando o processo de tratamento

Considerando a aplicação desse sistema como etapa terciária, tem-se então conflitos acerca do limite de lançamento estabelecido por legislações como explicitado anteriormente pela Diretiva europeia e Resolução paraguaia. No Brasil, apesar de não existir uma definição de valor máximo na concentração de DQO relativo ao padrão de lançamento CONAMA na resolução nº 430 de 2011 (referente para dispor sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para o lançamento de efluentes em corpos de água), a mesma possibilita a integração condições e padrões de lançamentos mediante comprovação técnica e conformidade com os requisitos vigentes já estabelecidos.

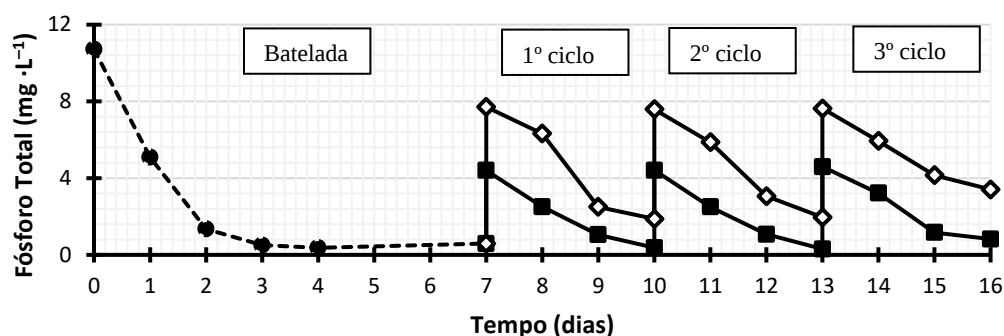
Gráfico 10 – Desempenho em semicontínuo pelo consórcio microalga-fungo na remoção de NT da carga C3. S.C - Semicontínuo



Experimento	Ciclo	% de Remoção	NT Residual (mg·L ⁻¹)	Experimento	Ciclo	% de Remoção	NT Residual (mg·L ⁻¹)
Semicontínuo 40%	1	84,72±0,04%	1,54±0,08	Semicontínuo 60%	1	88,37±0,02%	1,40±0,07
	2	83,33±0,01%	1,26±0,06		2	87,78±0,06%	1,54±0,08
	3	80,77±0,01%	1,40±0,07		3	87,76±0,03%	1,68±0,08

Fonte: Autor, 2024.

Gráfico 11 – Desempenho em semicontínuo pelo consórcio microalga-fungo na remoção de FT da carga C3. S.C - Semicontínuo



Experimento	Ciclo	% de Remoção	FT Residual (mg·L ⁻¹)	Experimento	Ciclo	% de Remoção	FT Residual (mg·L ⁻¹)
Semicontínuo 40%	1	91,52±0,18%	0,37±0,005	Semicontínuo 60%	1	75,73±0,13%	1,87±0,014
	2	93,03±0,02%	0,31±0,000		2	74,25±0,11%	1,95±0,008
	3	82,14±0,04%	0,82±0,003		3	55,32±0,03%	3,41±0,006

Fonte: Autor, 2024.

Sendo assim, como efeito dos resultados obtidos nos experimentos na presente etapa, foi percebido o alto valor de relação DQO:N sendo registrada em torno de 50, o que pode ocasionar um efeito limitante pela falta de nitrogênio no sistema corroborando assim na diminuição de eficiência na remoção de DQO, e dificultando a estabilidade do sistema.

Sendo assim, visando alcançar com margem de segurança concentrações residuais dos referentes poluentes abordados acerca do elucidado nas legislações discutidas, detectou-se a necessidade de uma etapa avaliando-se diferentes relações DQO:N e consequentemente N:P de forma a otimizar o sistema de tratamento.

Zhang *et al.* (2020) e Sithamparanathan *et al.* (2023), relatam a importância de se analisar a relação DQO:N dos efluentes durante o processo de tratamento, mostrando que há uma relação direta entre DQO e C e que a falta de NT pode acarretar um excesso de carbono ao final do processo e um excesso de NT em um residual de nitrogênio elevado.

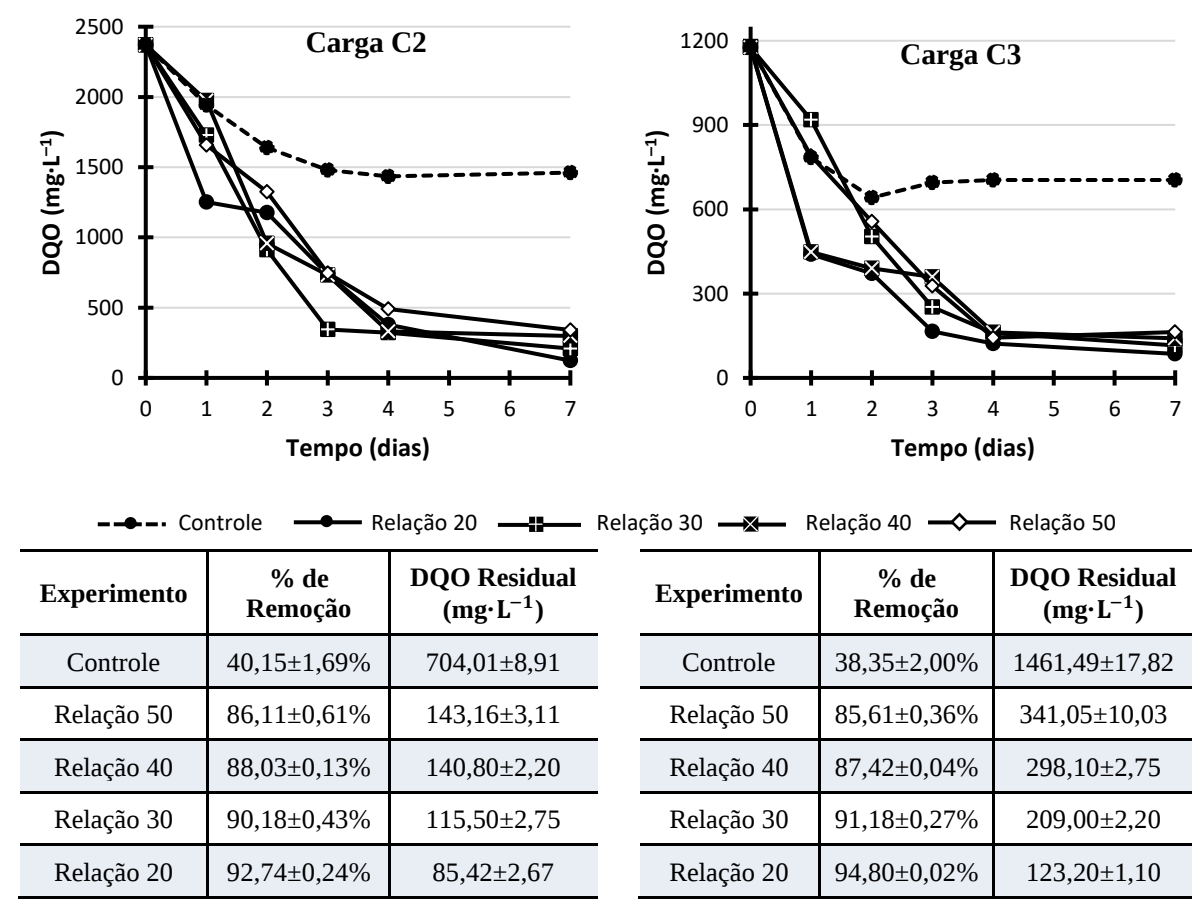
4.4 Otimização da relação DQO:N:P no tratamento terciário do efluente do soro do leite em modo descontínuo

Esta etapa de avaliação dos impactos da relação DQO:N:P o sistema de tratamento de efluentes aplicado surgiu como resposta à observação de limitações de nitrogênio em experimentos anteriores com intuito de otimizar o desempenho do processo, garantindo uma remoção eficaz de poluentes e minimizando potenciais efeitos adversos no ambiente receptor.

Na busca de aumentar a abrangência do estudo, além da C3 aplicado na etapa anterior, utilizou-se também a carga orgânica de C2.

Mediante o exposto no Gráfico 12, para a carga C2, as concentrações residuais de DQO e o percentual de remoção foram de $298,10 \pm 2,75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (87,42%), $209,00 \pm 2,20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (91,18%) e $123,20 \pm 1,10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (94,80%) para relações DQO:N de 40, 30 e 20, respectivamente. Por outro lado, para C3, foram obtidos valores de $140,80 \pm 2,20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (88,03%), $115,50 \pm 2,75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (90,18%) e $85,42 \pm 2,67 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (92,74%); respectivamente. Sendo assim, em ambos os experimentos foi conferido a condição inversamente proporcional entre a relação DQO:N e a eficiência de remoção (quanto menor a relação, maior a eficiência) alcançado melhores resultados quando comparado ao sistema isento de suplementação, e alcançando valores $< 125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, exigido pela legislação europeia, quando a relação DQO:N for entre 20 e 30, confirmando a influência da ralação DQO:N na remoção eficiente de DQO, confirmando as suposições da etapa anterior. É importante relembrar que a relação DQO:N de 50, é relacionada a C2 e C3 sem a suplementação de nitrogênio, utilizadas nos experimentos precedentes.

Gráfico 12 – Desempenho de eficiência na remoção de DQO para relações DQO:N estudadas

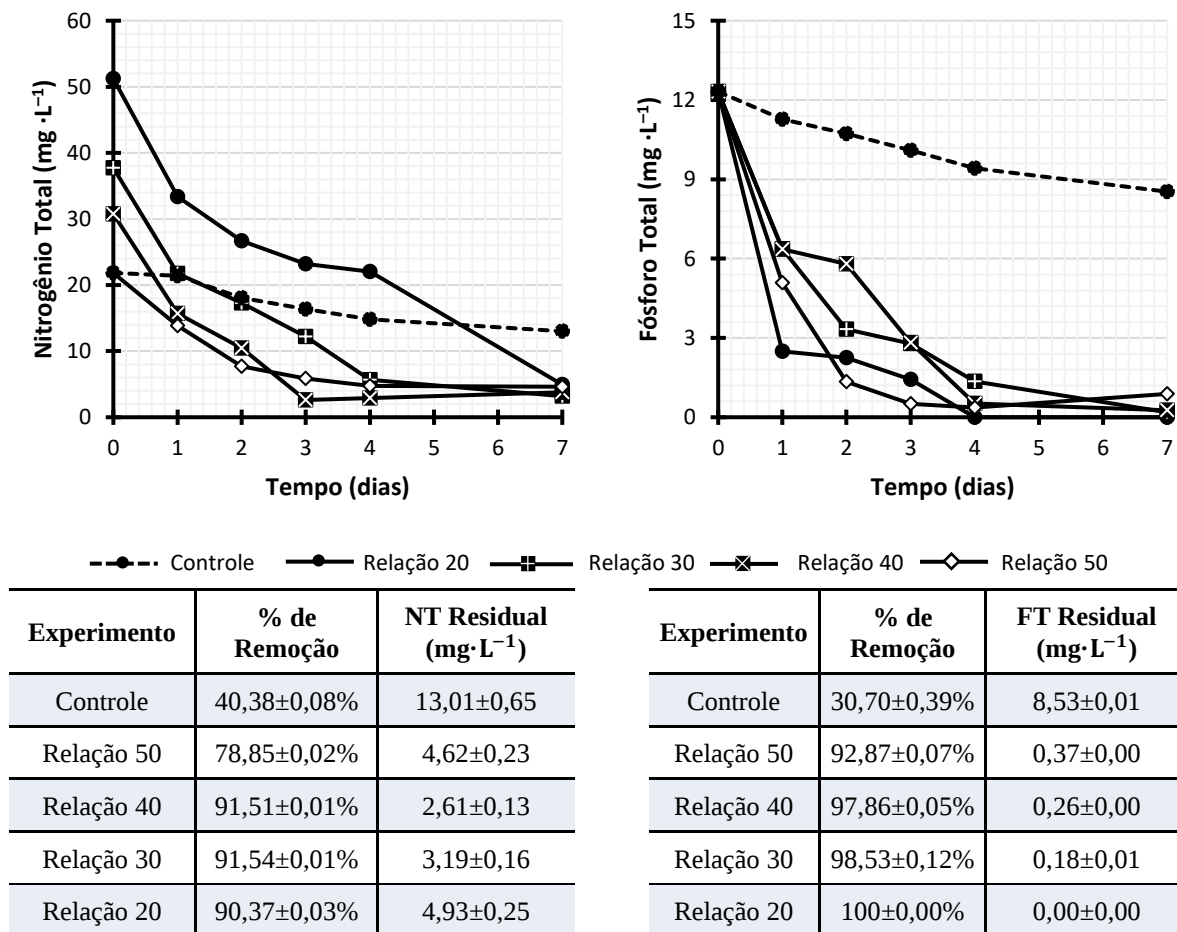


Fonte: Autor, 2024.

Para NT, na relação de 40, a suplementação resultou numa concentração inicial de $30,76 \pm 1,54 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e eficiência de tratamento de 91,51% (concentração residual de $2,61 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). A constância na eficiência foi comprovada ainda nos casos para relações 30 e 20 mesmo com o aumento do residual de NT devido a suplementação adicionada, observando valores residuais de $3,19 \pm 0,16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (91,54% de remoção) e $4,93 \pm 0,24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (90,01% de remoção). Apesar de um maior residual, ainda foi possível obter valores $< 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, conforme requisitado pela Diretiva europeia.

Verificando os resultados para a remoção de FT, percebeu-se o mesmo comportamento observado para DQO, obtendo-se resultados de $0,26 \pm 0,01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (97,86%), $0,19 \pm 0,01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (98,49%), $0,00 \pm 0,00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (100%) para configuração C3 em respectivas relações de DQO:N de 40, 30 e 20; respectivamente. Importante verificar que em todas as relações a concentração de FT foi $< 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, adequando-se à Diretiva europeia. No entanto, na relação DQO:N de 20, o fósforo mostrou-se limitante, e isso pode ter atrapalhado a consequente remoção de DQO e NT.

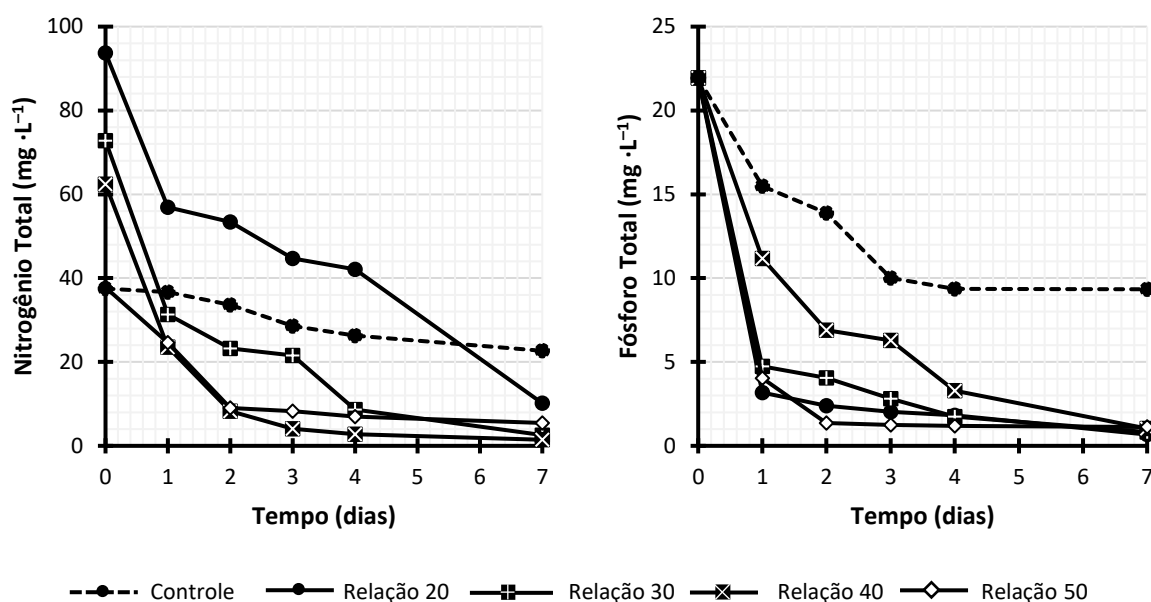
Gráfico 13 – Desempenho de eficiência na remoção de NT e FT para relações DQO:N estudadas para C3



Fonte: Autor, 2024.

Analogamente, o Gráfico 14, para C2 seguiram comportamentos semelhantes. Para NT, relações de DQO:N de 40 e 30 resultaram em percentagens de remoção e concentrações residuais de NT de 97,68% e 96,47% e $1,45 \pm 0,07 \text{ mgN} \cdot \text{L}^{-1}$ e $2,57 \pm 0,13 \text{ mgN} \cdot \text{L}^{-1}$; respectivamente. Para a relação de 20 devido ao alto valor suplementado obteve-se 89,16% de remoção e valor residual de $10,16 \pm 0,50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Para FT, encontrou-se 95,31% e $1,03 \pm 0,00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 96,25% e $0,82 \pm 0,01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e 96,95% e $0,67 \pm 0,01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para as relações de 40, 30 e 20; respectivamente. Semelhante ao ocorrido para C3, na relação DQO:N de 20, o FT, de fato, começou a exercer efeito limitante. No entanto, os parâmetros exigidos pela Diretiva europeia conseguiram ser alcançados.

Gráfico 14 – Desempenho de eficiência na remoção de NT e FT para relações DQO:N estudadas para C2



Experimento	% de Remoção	NT Residual ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
Controle	$39,55 \pm 0,10\%$	$22,67 \pm 1,13$
Relação 50	$78,15 \pm 0,03\%$	$5,46 \pm 0,27$
Relação 40	$93,50 \pm 0,001\%$	$1,45 \pm 0,07$
Relação 30	$96,47 \pm 0,01\%$	$2,57 \pm 0,13$
Relação 20	$89,16 \pm 0,06\%$	$10,16 \pm 0,51$

Experimento	% de Remoção	FT Residual ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
Controle	$57,46 \pm 0,73\%$	$9,34 \pm 0,07$
Relação 50	$94,88 \pm 0,01\%$	$1,12 \pm 0,01$
Relação 40	$95,31 \pm 0,03\%$	$1,03 \pm 0,00$
Relação 30	$96,25 \pm 0,01\%$	$0,82 \pm 0,01$
Relação 20	$96,94 \pm 0,09\%$	$0,67 \pm 0,01$

Fonte: Autor, 2024.

O aumento da eficácia motivado pela utilização de suplementações a fim de ajustar a razão DQO:N:P já foi analisado Prajapati *et al.* (2016) e Leng *et al.* (2021) acerca da influência positiva desse tipo de mecanismo para otimização de determinados resultados como na formação e colheita de *pellets* resultantes da simbiose *Chroococcus sp.* e *Aspergillus lentulus*,

chegando a conclusões de suplementação do sistema utilizando $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de glicose e $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NH_4NO_3 ou K_2HPO_4 e constatar indispensabilidade da mesma no alcance das altas taxas de eficiência de tratamento e colheita de microrganismos.

Entre as relações estudadas, o melhor desempenho foi obtido na relação DQO:N igual a 20 e que pode ser otimizado com a aplicação do sistema em semicontínuo. Estudos de Mohd Hanafiah *et al.* (2019) que, ao analisar possíveis melhorias na remoção de poluentes oriundos de efluentes domésticos, notaram melhores resultados quando o sistema foi imposto a proporção DQO:N de 17,8 ($\text{C17.8N1} > \text{C14.2N1} > \text{C7.1N1} > \text{C3.6N1}$) com alcance em pH inicial igual a 7 e percentagens de 96,00% e 93,20% para remoção de DQO e $\text{NH}_3\text{-N}$ (valores iniciais respectivamente de $534 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

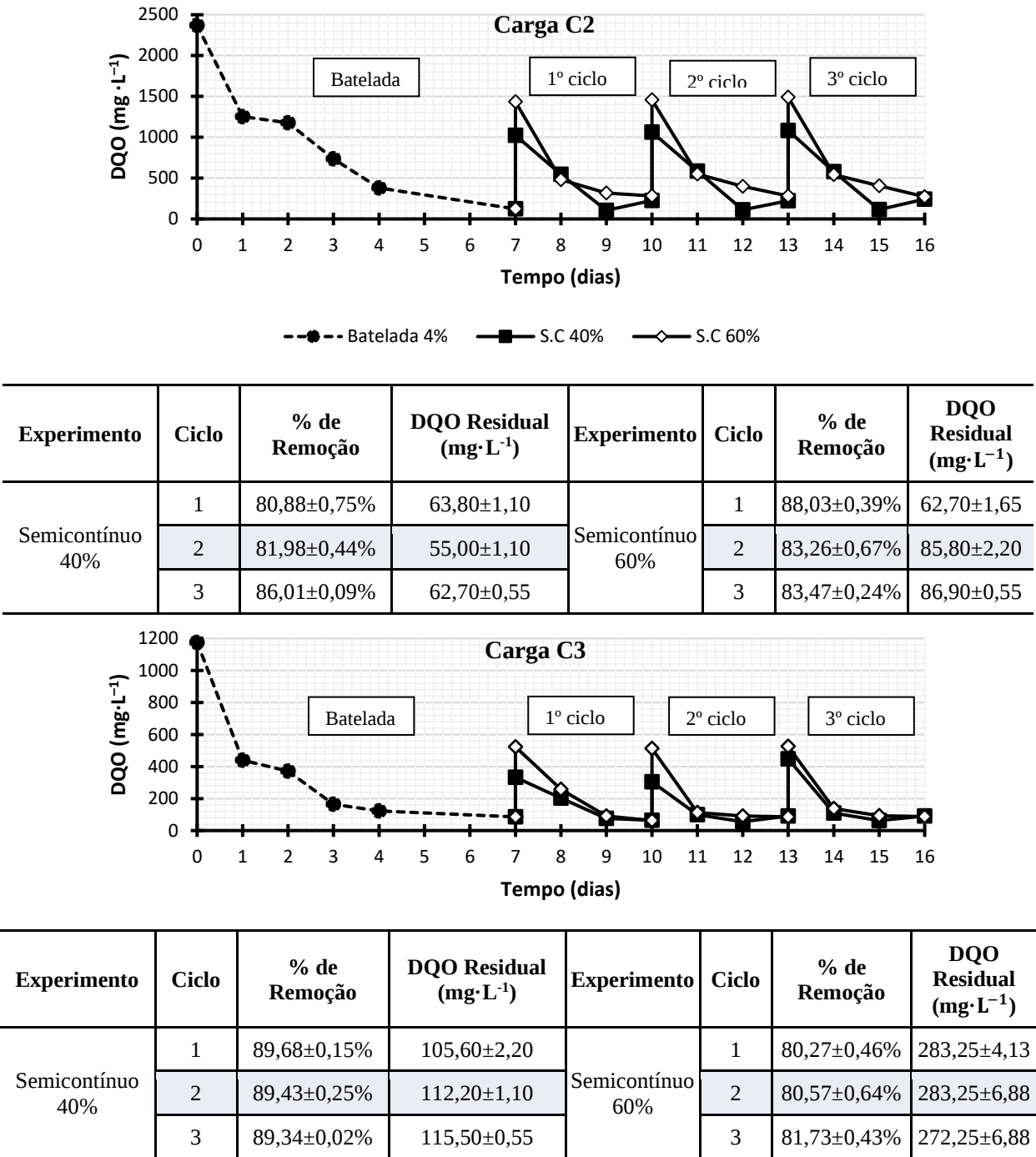
4.5 Tratamento terciário do efluente do soro do leite sob modo semicontínuo em condição otimizada de relação DQO:N:P

Aplicando o processo em semicontínuo, utilizando-se C2 e C3, para relação DQO:N de 20, buscou-se aumentar a eficiência de remoção dos poluentes em menor tempo de tratamento com maior estabilidade. Foram aplicadas TRVs de 40 e 60%.

No caso dos experimentos realizados sob configuração de carga orgânica C2, a uma TRV de 40% conseguiu-se valores residuais de DQO nos três ciclos de $105,60 \pm 2,20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $112,20 \pm 1,10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $115,50 \pm 0,55 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, estando ainda de acordo com a Diretiva europeia. Para uma TRV de 60%, as concentrações residuais foram $283,25 \pm 4,13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $283,25 \pm 6,88 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $272,25 \pm 6,88 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ estando fora do estabelecido.

Quanto ao comportamento de remoção de DQO em sistemas constituídos de carga orgânica C3, foram obtidos resultados positivos para ambas TRVs aplicadas em relação a C3 com concentrações residuais de $63,80 \pm 1,10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $85,42 \pm 2,67 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para TRVs de 40 e 60%; respectivamente. Observando-se menores concentrações residuais de DQO do que a etapa em semicontínuo anterior, quando conduzida a relação de DQO:N de 50. Importante ressaltar que o tratamento pôde obter essa eficiência em 2 dias reduzindo o tempo do processo descontínuo.

Gráfico 15 – Desempenho do tratamento terciário em semicontínuo na remoção de DQO para C2 e C3 para TRVs de 40 e 60% e relação DQO:N igual a 20. S.C - Semicontínuo

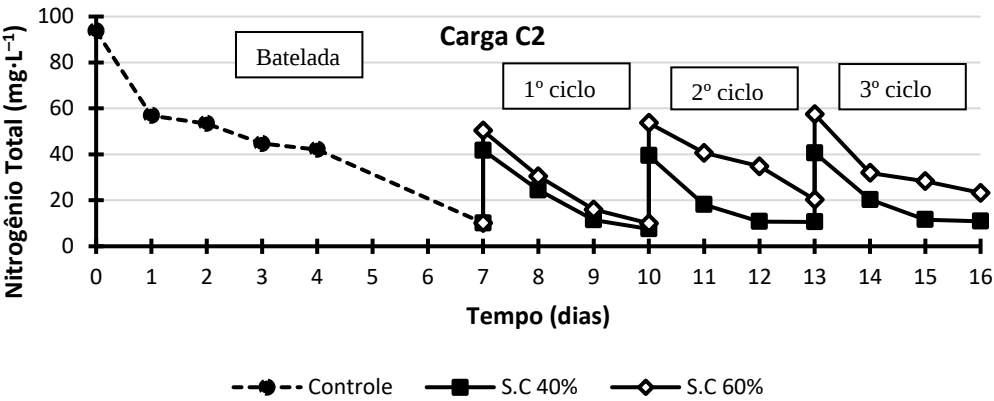


Fonte: Autor, 2024.

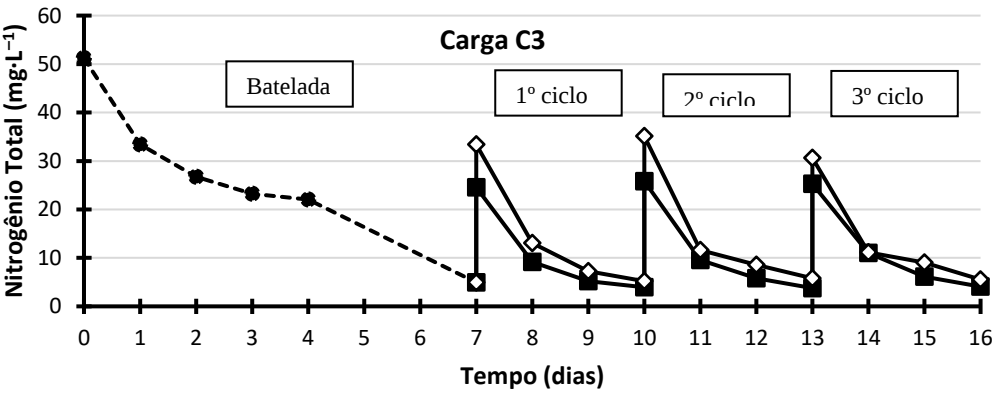
Analisando os resultados de NT (Gráfico 16), houve um comportamento similar ao observado para DQO. Houve maior estabilidade para o processo com carga C2 com TRV de 40% e em C3 para ambas TRVs de 40 e 60% e, estando com valores residuais menores do máximo estabelecido pela Diretiva europeia, mesmo os valores residuais tenham sido maiores que no semicontínuo conduzido com C3 em relação DQO:N igual a 50, devido a suplementação

feita. Para C3, obteve-se 84,44% - $3,95 \pm 0,19 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e 83,27% - $5,51 \pm 0,27 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para TRVs de 40 e 60%; respectivamente. Para C2, os percentuais de remoção e concentrações residuais 81,94% - $7,55 \pm 0,28 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e 80,12% - $10,01 \pm 0,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para TRVs de 40 e 60%; respectivamente.

Gráfico 16 – Desempenho do tratamento terciário em semicontínuo na remoção de NT para C2 e C3 para TRVs de 40 e 60% e relação DQO:N igual a 20. S.C. - Semicontínuo



Experimento	Ciclo	% de Remoção	NT Residual (mg·L ⁻¹)	Experimento	Ciclo	% de Remoção	NT Residual (mg·L ⁻¹)
Semicontínuo 40%	1	81,94±0,03%	7,55±0,37	Semicontínuo 60%	1	80,12±0,04%	10,01±0,50
	2	73,16±0,02%	10,59±0,53		2	62,16±0,09%	20,32±1,02
	3	73,21±0,06%	10,88±0,54		3	59,60±0,11%	23,22±1,16

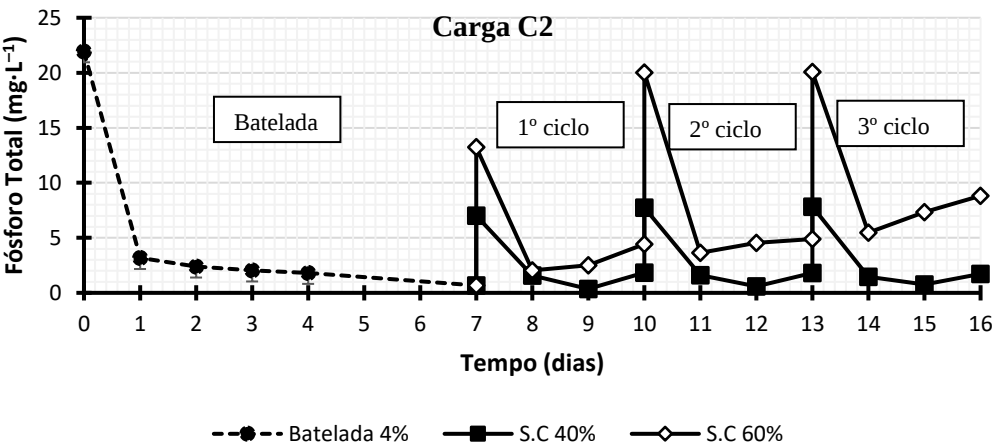


Experimento	Ciclo	% de Remoção	NT Residual (mg·L ⁻¹)	Experimento	Ciclo	% de Remoção	NT Residual (mg·L ⁻¹)
Semicontínuo 40%	1	84,02±0,01%	3,92±0,19	Semicontínuo 60%	1	84,35±0,05%	5,22±0,26
	2	85,39±0,23%	3,77±3,58		2	83,47±0,10%	5,80±0,29
	3	83,91±0,01%	4,06±0,20		3	81,99±0,02%	5,51±0,27

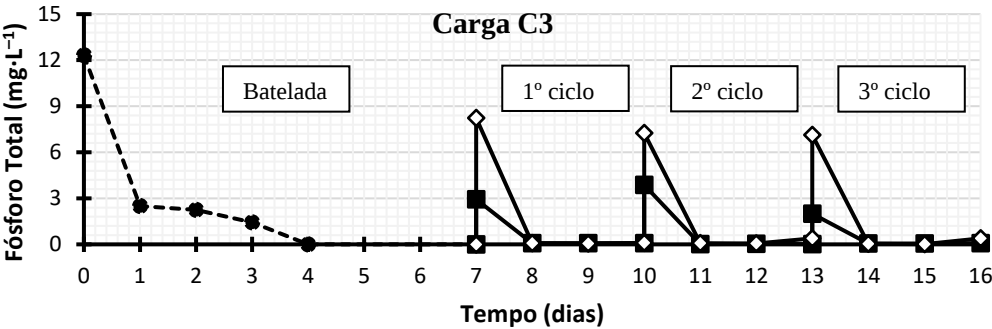
Fonte: Autor, 2024.

Pela análise de remoção de FT (Gráfico 17), apenas o sistema com carga orgânica C2 e TRV de 40% atingiram concentrações residuais dentro dos conformes estabelecidos nas Diretiva europeia (semelhantemente à DQO e NT) tendo percentuais de remoção entre 90-95% e concentração residual entre 0,32-0,76 mg·L⁻¹. Em contrapartida, para TRVs obteve-se valores de remoção entre 73-84% com valores residuais entre 4,4-8,8 mg·L⁻¹.

Gráfico 17 – Desempenho do tratamento terciário em semicontínuo na remoção de FT para C2 e C3 para TRVs de 40 e 60% e relação DQO:N igual a 20. S.C. - Semicontínuo



Experimento	Ciclo	% de Remoção	FT Residual (mg·L ⁻¹)	Experimento	Ciclo	% de Remoção	FT Residual (mg·L ⁻¹)
Semicontínuo 40%	1	94,92±0,29%	0,36±0,01	Semicontínuo 60%	1	84,58±0,26%	2,04±0,02
	2	92,41±0,05%	0,59±0,01		2	81,81±0,004%	3,64±0,01
	3	90,25±0,13%	0,76±0,01		3	72,78±0,01%	5,46±0,01



Experimento	Ciclo	% de Remoção	FT Residual (mg·L ⁻¹)	Experimento	Ciclo	% de Remoção	FT Residual (mg·L ⁻¹)
Semicontínuo 40%	1	97,20±0,35%	0,08±0,01	Semicontínuo 60%	1	99,33±0,18%	0,09±0,01
	2	99,43±0,00%	0,02±0,00		2	98,75±0,00%	0,06±0,00
	3	95,74±0,00%	0,08±0,00		3	99,68±0,00%	0,02±0,00

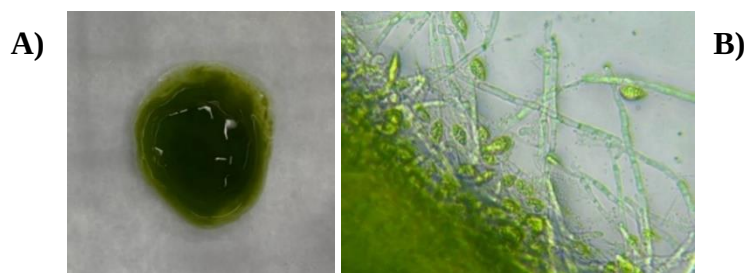
Fonte: Autor, 2024.

Para C3 (Gráfico 17) em ambas TRVs obtiveram alta remoção e teores residuais menores de FT entre 97-99,5% - 0,02-0,08 mg·L⁻¹ para TRV de 40% e 99,2-99,6% - 0,09-0,39 mg·L⁻¹ para TRV de 60%, respectivamente. Esses valores residuais foram menores aos obtidos para uma relação de DQO:N igual a 50 realizados anteriormente.

4.6 Produção de biomassa e comportamento do pH no sistema

Conforme argumentos de Du *et al.* (2019), a formação de biomassa em forma de *pellets* pode ser justificada pela ausência da fração externa lisa da parede celular microalgal ocasionada pela forte interação física com consequente exposição de superfície fibrosa e aderência nas hifas (micélio) fúngico. Essa tipologia de biomassa foi registrada durante todos os ensaios realizados como representado na Figura 8.

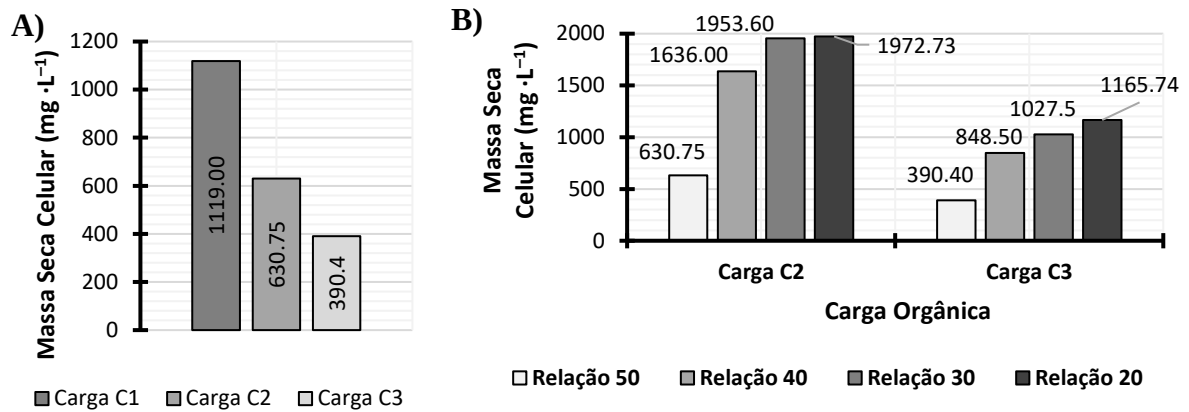
Figura 11 – Formação de *pellets* nos sistemas montados (A) e microscopia (40x) (B)



Fonte: Autor, 2024.

Nos experimentos realizados foi possível constatar a maior produção de biomassa conforme aumento da concentração de carga orgânica disponível no sistema em concordância ao exposto no Gráfico 18. Li *et al.* (2019) afirmam que ação de consumo entre os microrganismos inseridos no sistema dos poluentes característicos de efluentes como DQO (contendo carbono orgânico), nitrogênio e fósforo para nutrição em seus respectivos metabolismos e, conseqüentemente, favorecimento no crescimento em maneira proporcional às suas concentrações. Acresce ainda o aumento gradativo na produção de biomassa conforme realização de suplementação dos reatores com fonte de nitrogênio em forma de (NH₄)₂SO₄ podendo ser justificado pela particularidade como fator essencial na fase lag/crescimento da biomassa e não apenas na síntese de proteínas como também de material genético (Satpati *et al.*, 2023).

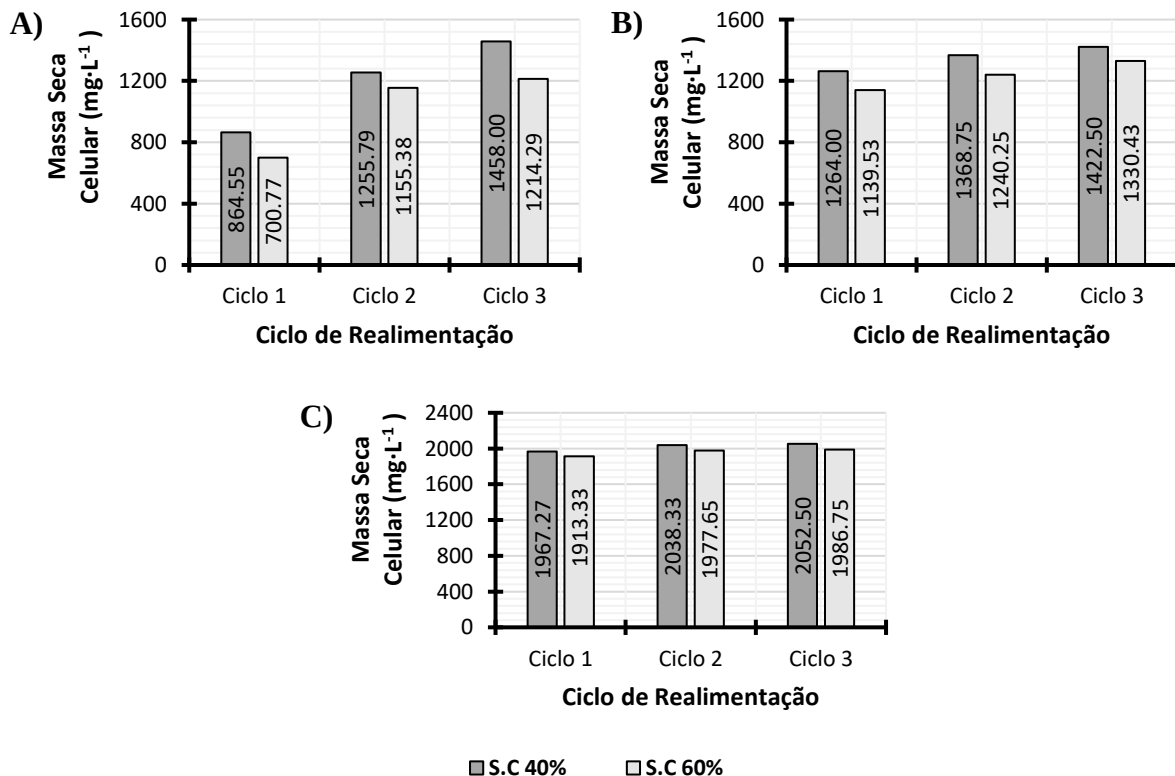
Gráfico 18 – Produção de biomassa em sistema microalga-fungo para C1, C2 e C3 em DQO:N = 50 (A) e em várias relações de DQO:N (B) em modo descontínuo



Fonte: Autor, 2024.

Percebe-se no Gráfico 19 que o peso seco celular em modo semicontínuo foi em torno de 1 g · L⁻¹ para C3 e 2 g · L⁻¹ para C2, com manutenção do crescimento e estabilização a cada ciclo. Khalatbari *et al.* (2024) ao analisar o desempenho *Chlorella sorokiniana* no tratamento de polimento de águas residuais de processamento de pescado sob modo de operação semicontínuo observaram, assim como o presente estudo, valores crescentes do peso seco celular de 0,072, 0,704 e 0,959 g · L⁻¹ ao final dos ciclos de dia 0, dia 15 e dia 30.

Gráfico 19 – Produção de lodo microbiano em sistema microalga-fungo para C3 em DQO:N = 50 (A), C3 em DQO:N = 20 (B) e C2 em DQO:N = 20 (C) em modo semicontínuo (S.C.)

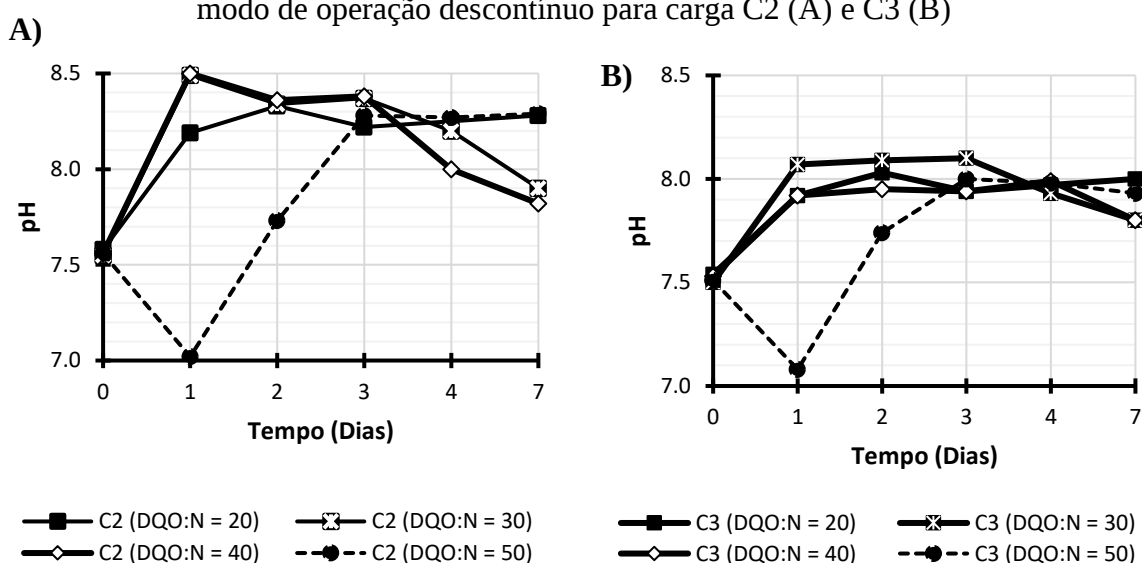


Fonte: Autor, 2024.

Em relação ao comportamento do pH no sistema descontínuo com diferentes relações DQO:N (Gráfico 20), em geral foi detectado a ocorrência de estabilidades nos experimentos de carga C3 entre valores de 7,8 e 8,0, exceto no ponto de 24hr no reator isento de ajustes na relação DQO:N com queda no valor para 7,02. No caso de experimentos com carga C2 apesar do comportamento semelhante ao descrito anteriormente, foi registrado um intervalo maior de pH sendo este na ordem de 7,8 e 8,3.

Conforme explicitado por Zhang e Zhang (2016) e Leng *et al.* (2021), as influências do pH em sistemas de co-cultivo microalga-fungo foram observadas desde suas interações entre si com destaque na diferença dos potenciais zetas (carga negativa para microalgas e positiva para fungos) condicionando a neutralização (maior tamponamento) e facilitação da agregação e formação de *pellets*. Além disso, os mesmos alegam registros de favorecimento no processo de floculação dos microrganismos a pH mais alcalinos ou levemente alcalinos, como observado no presente estudo.

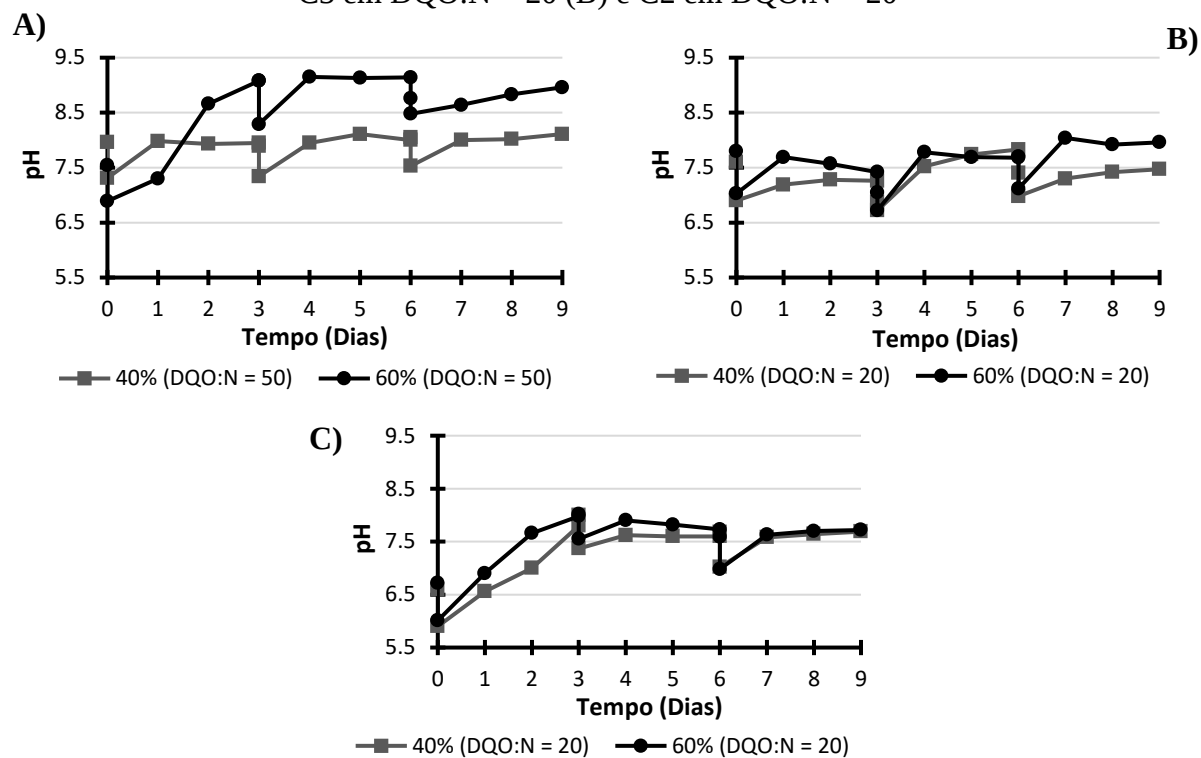
Gráfico 20 – Comportamento do pH do sistema utilizando consórcio microalga-fungo em modo de operação descontínuo para carga C2 (A) e C3 (B)



Fonte: Autor, 2024.

Quanto ao desempenho do pH em sistema semicontínuo (Gráfico 21), percebeu-se que mesmo nos sistemas com ajuste da relação DQO:N, o pH tendeu a se estabilizar entre 7-8,5, essencial para a manutenção do co-cultivo microalga-fungo.

Gráfico 21 - Comportamento do pH no sistema semicontínuo para C3 em DQO:N = 50 (A), C3 em DQO:N = 20 (B) e C2 em DQO:N = 20



Fonte: Autor, 2024.

Segundo Khalatbari *et al.* (2024) as elevações de pH podem ser justificadas pelo crescimento de microalgas, contudo vale ressaltar a adequação dos níveis de pH discutidos com o intervalo exigido nos padrões de CONAMA na resolução nº 430 de 2011 estabelecidos entre valores de 5 a 9, não necessitando assim de ajustes do efluente no período de descarte pós tratamento.

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, fica evidente a eficácia do tratamento biológico utilizando o consórcio de microalga-fungo, especificamente *T. obliquus* e *C. echinulata*, para a remoção de DQO, NT e FT no efluente estudado. Na primeira etapa, do tratamento secundário utilizando o consórcio, foi alcançada uma remoção significativa de DQO, NT e FT, atingindo concentrações semelhantes às aquelas que seriam utilizadas no tratamento terciário do efluente desta etapa.

Alcançou-se no tratamento terciário, em diferentes condições de carga orgânica e em modo descontínuo, taxas de remoção dos contaminantes e valores residuais compatíveis com o descarte em corpos hídricos por legislações nacionais e internacionais, principalmente a Diretiva europeia. Na aplicação do sistema em semicontínuo, para TRVs de 40 e 60%, conseguiu-se reproduzir as mesmas ou melhores eficiências alcançadas em processo descontínuo. No entanto, verificou-se que a concentração de NT presente no efluente foi limitante para uma maior remoção de DQO e FT, pois havia uma relação DQO:N igual a 50.

Nesse sentido, estudou-se relações de DQO:N adicionais, de 20, 30 e 40. De fato, seja em processo descontínuo que semicontínuo (TRVs de 40 e 60%) foi possível uma maior remoção de DQO e FT, principalmente em relação DQO:N entre 20-30, mostrando que observar a relação entre DQO:N:P do efluente é importante para alcançar os padrões de lançamento em corpos hídricos.

Com o processo semicontínuo, durante 3 ciclos de repetições, houve diminuição do tempo de processo, de 7 dias para o descontínuo para 2-3 dias (com TRVs de 40 e 60%), além de mostrar maior estabilidade, ausência de fase lag e sem necessidade de inóculo adicional.

Houve a produção de lodo microbiano entre 1-2 g L⁻¹, que mostra um alto potencial desse tipo de biomassa para aplicações biotecnológicas, uma vez que tanto a biomassa de microalgas e fúngica tem inúmeros compostos e macromoléculas que podem ser usados na síntese de biomateriais, biofertilizante, adsorventes ou extração de materiais como proteínas, lipídios, carboidratos e enzimas.

O pH do sistema mostrou-se estável entre 7-8,5, seja descontínuo que semicontínuo, sem necessidade de ajuste, mostrando um eficiente tamponamento biológico durante o co-cultivo, e de interesse para aplicações industriais, onde grandes volumes de efluente são tratados, e não haver a necessidade de controle periódico é uma vantagem adicional. Recomenda-se o teste do sistema em escala piloto visando a escalabilidade do processo e sua validação industrial.

REFERÊNCIAS

- ABD EL BAKY, H. H.; EL BAROTY, G. S. Cultivation of *Pseudochlorella pringsheimii* for biodiesel production in a scalable indoor photobioreactor: case studies from Egypt. ***Journal of Genetic Engineering and Biotechnology***, v. 21, n. 25, 2023.
- ABIUSI, F.; TROMPETTER, E.; HOENINK, H.; WIJFFELS, R. H.; JANSSEN, M. Autotrophic and mixotrophic biomass production of the acidophilic *Galdieria sulphuraria* ACUF 64. ***Algal Res.***, v. 60, 102513, 2021.
- AHMAD, I.; ABDULLAH, N.; KOJI, I.; YUZIR, A.; MOHAMAD, S. E. Potential of Microalgae in Bioremediation of Wastewater. ***Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis***, ed. 2, v. 16, p. 413-429, 2021.
- AJJAWI, I.; VERRUTO, J.; AQUI, M.; SORIAGA, L. B.; COPPERSMITH, J.; KWOK, K.; *et al.* Lipid production in *Nannochloropsis gaditana* is doubled by decreasing expression of a single transcriptional regulator. ***Nat Biotechnol.***, v. 35, p. 647–652, 2017.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. 1996. **Introductory Mycology**. John Wiley Sons. Inc. New York, ed. 4, 1996.
- ANDRADE, L. H. **Tratamento de efluente de indústria de laticínios por duas configurações de biorreator com membranas e nanofiltração visando reuso**. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia da UFMG, Belo Horizonte, 2011.
- ANDRADE, L.H.; MENDES, F.D.S.; ESPINDOLA, J.C.; AMARAL, M.C.S. Nanofiltration as tertiary treatment for the reuse of dairy wastewater treated by membrane bioreactor. ***Separation and Purification Technology***, v. 126, p. 21-29, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.01.056>
- ANDRADE, M. V. R. F; DEUSDARÁ. T. T; SCHEIDT, G. N; JÚNIOR, A. F. C. Isolamento, caracterização fenotípica e perfil de crescimento de cepas do fungo *Cunninghamella* sp. ***Biota Amazônia***. Macapá, v. 5, n. 2, p. 58-64, 2015.
- ANDRADE, R. F. S. *et al.* Promising biosurfactant produced by *Cunninghamella echinulate* UCP 1299 using renewable resources and its application in cotton fabric cleaning process. ***Advances in Materials Science and Engineering***, v. 2018, p. 1-12, 2018.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Deteção e Identificação dos Fungos de Importância Médica – Módulo VII**. 2004. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicosade/microbiologia/mod_7_2004.pdf. Acesso em: 10 jan 2023.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official Method of Analysis**. Association of Official Analytical, ed. 16, Washington DC, 2002.

ARSHAD, U.; HASSAN, A.; AHMAD, T.; NAEEM, M.; CHAUDHARY, M. T.; ABBAS, S. Q.; RANDHAWA, M. A.; PIMENTEL, T. C.; DA CRUZ, A. G.; AADIL, R. M. A recent glance on the valorisation of cheese whey for industrial prerogative: high-value-added products development and integrated reutilising strategies. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 58, p. 2001-2013, 2022.

AZMA, M.; MOHAMED, M. S.; MOHAMAD, R.; RAHIM, R. A.; ARIFF, A. B. Improvement of medium composition for heterotrophic cultivation of green microalgae, *Tetraselmis suecica*, using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*, v. 53, p. 187-195, 2011.

BARNHARST, T.; RAJENDRAN, A.; HU, B. Bioremediation of synthetic intensive aquaculture wastewater by a novel feed-grade composite biofilm. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 126, p. 131-142, 2018.

BAIEE, M. A. Effect of phosphorus concentration and light intensity on protein content of microalga *Chlorella vulgaris*. *Mesopotamia Environmental Journal*, v. 2, n. 2, p. 75–86, 2016.

BARONE, R.; DE NAPOLI, L.; MAYOL, L.; PAOLUCCI, M.; VOLPE, M. G.; D'ELIA, L.; POLLIO, A.; GUIDA, M.; GAMBINO, E.; CARRATURO, F.; MARRA, R.; VINALE, F.; WOO, S. L.; LORITO, M. Autotrophic and Heterotrophic Growth Conditions Modify Biomolecule Production in the Microalga *Galdieria sulphuraria* (Cyanidiophyceae, Rhodophyta). *Mar. Drugs*, v. 18, p. 169, 2020.

BARAL, S. S.; DIONISI, D.; MAARISSETTY, D.; GANDHI, A.; KOTHARI, A.; GUPTA, G.; JAIN, P. Biofuel production potential from wastewater in India by integrating anaerobic membrane reactor with algal photobioreactor. *Biomass and Bioenerg*, v. 133, 105445, 2020.

BELLA, K.; RAO, P. V. Anaerobic digestion of dairy wastewater: effect of different parameters and co-digestion options – a review. *Biomass Conversion and Biorefinery*, v. 13, p. 2527–2552, 2021.

BEN-AMORTZ, A. Bioactive compounds: Glycerol Production, Fatty Acids Production. In: BEN-AMORTZ, A., POLLE, J. E. W., RAO, D. V. S. The Alga *Dunaliella*: Biodiversity, 42 physiology, genomics and biotechnology. 1st ed. **Science Publishers**, cap. 8, p. 189- 190, 2009.

BHANDARI, M.; KUMAR, P.; BHATT, P.; SIMSEK, H.; KUMAR, R.; CHAUDHARY, A.; MALIK, A.; PRAJAPATI, S. K. An integration of algae-mediated wastewater treatment and resource recovery through anaerobic digestion. **Journal of Environmental Management**, v. 342, 118159, 2023.

BÓDALO, A.; GÓMEZ, E.; GÓMEZ, J. L.; BASTIDA, J.; MÁXIMO, M. F.; DÍAZ, F. A. Comparison of Different Methods of β -Galactosidase Immobilization. **Process Biochemistry**, v. 26, n. 6, p. 349-353, 1991.

BOROWITZKA, M. A. Biology of Microalgae. Microalgae in Health and Disease Prevention, cap. 3, p. 23-72, **Elsevier**, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009**. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União, Poder Executivo, 2009. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm. Acesso em: 03 abr 2023.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 2011. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 08 fev. 2025.

BRASIL, Bruno dos Santos Alves Figueiredo; GARCIA, Lorena Costa. Microalgas: Alternativas Promissoras para a Indústria. Termo in: Embrapa Agroenergia. **Agroenergia em Revista**, ed. 10, Distrito Federal: Embrapa Agroenergia, p. 6-12, 2016.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 557-577, 2010.

BREUER, G.; DE JAEGER, L.; VERBEEK, R. E.; DRAAISMA, R. B.; MARTENS, D. E.; SPRINGER, J.; EGGINK, G.; WIJFFELS, R. H. Superior triacylglycerol (TAG)

accumulation in starchless mutants of *Scenedesmus obliquus*: (I) 76generat 76generation and characterization. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, p. 69, 2014.

BUSSA, M.; EISEN, A.; ZOLLFRANK, C.; *et al.* Life cycle assessment of microalgae products: State of the art and their potential for the production of polylactid acid. **Journal of Cleaner Production**, v. 213, p. 1299-1312, 2019.

CAMPBELL, D.; HURRY, V.; CLARKE, A. K.; GUSTAFSSON, P. Chlorophyll Fluorescence Analysis of Cyanobacterial Photosynthesis and Acclimation. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 3, p. 667-683, 1998.

CHAVES, A. J.; DEL BIANCHI, V. L.; RIBEIRO, E. R.; BUENO, G. F. **Tratamento de efluente da indústria de laticínios utilizando a microalga *Spirulina platensis***. In: congresso de Iniciação Científica, 24., 2012, São Paulo. Anais eletrônicos. São Paulo: UNESP, 2012.

CHEN, G. Q.; TALEBI, S.; GRAS, S. L.; WEEKS, M.; KENTISH, S. E. A review of salty waste stream management in the Australian dairy industry. **J Environ Manag**, v. 224, p. 406–413, 2018.

CHEN, G. Q.; QU, Y.; GRAS, S. L.; KENTISH, S. E. Separation Technologies for Whey Protein Fractionation. **Food Engineering Reviews**, 2023.

CHENG, D. L.; NGO, H. H.; GUO, W. S.; LIU, Y. W.; ZHOU, J. L.; CHANG, S. W.; NGUYEN, D. D.; BUI, X. T.; ZHANG, X. B. Bioprocessing for elimination antibiotics and hormones from swine wastewater. **Sci. Total Environ.**, v. 621, p. 1664–1682, 2018.

CHOJNACKA, K.; MARQUEZ-ROCHA, F. J. Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. **Biotechnology**, n.3, v.1, p. 21-34, 2004.

CHRONOPOULOU, L. *et al.* Extraction of carotenoids and fat-soluble vitamins from *Tetradismus obliquus* microalgae: An optimized approach by using supercritical CO₂. **Molecules**, v. 24, 2581, 2019.

CHU, F.; CHU, P.; SHEN, X.; LAM, P. K. S.; ZENG, R. J. Effect of phosphorus on biodiesel production from *Scenedesmus obliquus* under nitrogen-deficiency stress. **Bioresource Technology**, v. 152, p. 241–246, 2014.

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.

DANESHVAR, E.; ZARRINMEHR, M. J.; HASHTJIN, A. M.; FARHADIAN, O.; BHATNAGAR, A. Versatile applications of freshwater and marine water microalgae in dairy wastewater treatment, lipid extraction and tetracycline biosorption. **Bioresour. Technol.**, v. 268, p. 523–530, 2018.

DEACON, J. W. **Modern Mycology**. Blackwell Science, Londres, ed. 3, p. 303, 1997.

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. *Tetrademus obliquus* to treat groundwater contaminated with nitrate towards a semicontinuous process. **Energ. Ecol. Environ.**, v. 8, p. 262–272, 2023.

DIAS, C.; REIS, A.; SANTOS, J. A. L.; GOUVEIA, L.; DA SILVA, T. L. Primary brewery wastewater as feedstock for the yeast *Rhodospiridium toruloides* and the microalga *Tetrademus obliquus* mixed cultures with lipid production. **Process Biochem.**, v. 113, p. 71–86, 2022.

DINIKA, I.; VERMA, D. K.; BALIA, R.; UTAMA, G. L.; PATEL, A. R. Potential of cheese whey bioactive proteins and peptides in the development of antimicrobial edible film composite: A review of recent trends. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 103, p. 57-67, 2020.

DOUROU, M.; AGGELI, D.; PAPANIKOLAOU, S.; AGGELIS, G. Critical steps in carbon metabolism affecting lipid accumulation and their regulation in oleaginous microorganisms. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 102, p. 1–15, 2018.

DONG, X.; WEI, J.; HUANG, J.; ZHAO, C.; SUN, S.; ZHAO, Y.; LIU, J. Performance of different microalgae-fungi-bacteria co-culture technologies in photosynthetic and removal performance in response to various GR24 concentrations. **Bioresource Technology**, v. 347, 126428, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126428>

DOS SANTOS, W. R.; TAGLIAFERRO, G. V.; DOS SANTOS, J. C. *et al.* Semi-continuous Cultivation of *Chlorella minutissima* in Landfill Leachate: Effect of Process Variables on Biomass Composition. **Waste Biomass Valor**, v. 13, p. 1627–1638, 2022.

DU, Z.-Y.; ZIENKIEWICZ, K.; VANDE POL, N.; OSTROM, N. E.; BENNING, C.; BONITO, G. M. Algal-fungal symbiosis leads to photosynthetic mycelium. **eLife**, v. 8, 47815, 2019. <https://doi.org/10.7554/eLife.47815>

ELIA, S.; STYLIANOU, M.; AGAPIOU, A. Combined EC/EO processes for treating goat cheese whey wastewater. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, v. 32, 100963, 2023.

EL-BAZ, H. A.; ELAZZAZY, A. M.; SALEH, T. S.; DOUROU, M.; MAHYOUB, J. A.; BAESHEN, M. N.; MADIAN, H. R.; AGGELIS, G. Enzymatic Synthesis of Glucose Fatty Acid Esters Using SCOs as Acyl Group-Donors and Their Biological Activities. *Appl. Sci.*, v. 11, 2700, 2021.

EMPARAN, Q.; HARUN R.; DANQUAH, M. K. Role of phycoremediation for nutrient removal from wastewaters: A review. *Applied Ecology and Environmental Research*, v. 17, p. 889–915, 2019.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Dairy Market Review: Overview of global dairy market developments in 2019.** 2019. Disponível em: <https://www.fao.org/3/ca8341en/CA8341EN.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2024.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Dairy Market Review: Overview of market and policy developments in 2022.** 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/3/cc3418en/cc3418en.pdf>. Acesso: 28 fev. 2024.

FERNÁNDEZ, F. G. A.; REIS, A.; WIFFELS, R. H.; BARBOSA, M.; VERDELHO, V.; LLAMAS, B. The role of microalgae in the bioeconomy. *New Biotechnology*, v. 61, p. 99-107, 2021.

FERREIRA, F. O. P. **Tratamento de efluente de suinicultura com microalgas e valorização da biomassa como biofertilizante e bioestimulante.** Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) – Universidade de Lisboa, 2022.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> . Acesso em: 04 jul. 2023.

FURHAN, J. Adaptation, production, and biotechnological potential of cold-adapted proteases from psychrophiles and psychrotrophs: recent overview. *J Genet Eng Biotechno.*, v. 18, p. 1–13, 2020.

GONCALVES, V. D. *et al.* Combination of Light Emitting Diodes (LEDs) for photostimulation of carotenoids and chlorophylls synthesis in *Tetrademus sp.* *Algal Research*, v. 43, 101649, 2019.

GONZÁLEZ-CAMEJO, J.; APARICIO, S.; RUANO, V.; BORRÁS, L., BARAT, R. FERRER, J. Effect of ambient temperature variations on an indigenous microalgae-nitrifying bacteria culture dominated by *Chlorella*. **Bioresource Technology**, v. 290, 121788, 2019.

GRIS, B.; MOROSINOTTO, T.; GIACOMETTI, G. M.; BERTUCCO, A.; SFORZA, E. Cultivation of *Scenedesmus obliquus* in photobioreactors: effects of light intensities and light-dark cycles on growth, productivity, and biochemical composition. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, p. 2377 – 2389, 2014.

GUO, M., WANG, G. History of whey production and whey protein manufacturing. In *Whey Protein Production, Chemistry, Functionality, and Applications*, p. 1–12, ed, Minnessota: **JohnWiley & Sons Ltd**, 2019.

HARIZ, H. B.; TAKRIFF, M. S.; MOHD YASIN, N. H.; BA-ABBAD, M. M.; MOHD HAKIM, N. I. N. Potential of the microalgae-based integrated wastewater treatment and CO₂ fixation system to treat Palm Oil Mill Effluent (POME) by indigenous microalgae; *Scenedesmus sp.* And *Chlorella sp.* **J Water Process Eng**, v. 32, 100907, 2019.

HO, S-H.; CHEN, C-H.; CHANG, J-S. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource Technology**, v. 113, p. 244-252, 2012.

HOEK, C.; MANN, D. G.; JAHNS, H. M. **Algae: an introduction to phycology**. London: Cambridge University, 1995.

HONDA, N. K.; VILEGAS, W. A química dos líquens. **Quimica Nova**, v. 22, n. 1, p. 110–125, 1999.

HORVÁTH, I.; GLATZ, A.; NAKAMOTO, H.; MISHKIND, M. L.; MUNNIK, T.; SAIDI, Y.; GOLOUBINOFF, P.; HARWOOD, J. L.; VIGH, L. Heat shock response in photosynthetic organisms: membrane and lipid connections. **Prog. Lipid Res.**; v. 51, 208–220, 2012.

HU, Q. **Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products – major industrial species: *Arthrospira (Spirulina) platensis***. In: RICHMOND, A. (Ed). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, p. 264-272, 2004.

HU, Q.; SOMMERFELD, M.; JARVIS, E.; GHIRARDI, M.; POSEWITZ, M.; SEIBERT, M.; DARZINS, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. ***The Plant Journal***, 54, p. 621–639, 2008.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. ed. 4, São Paulo, 2005.

IRAM, S. *et al.* Heavy metal tolerance of fungus isolated from soil contaminated with sewage and industrial wastewater. ***Polish Journal of Environmental Studies***, v. 22, n. 3, p. 691–697, 2013.

ISLAMI, H. R.; ASSAREH, R. Effect of different iron concentrations on growth, lipid accumulation, and fatty acid profile for biodiesel production from *Tetrademus obliquus*. ***J. Appl. Phycol.***, v. 31, n. 6, p. 3421–3432, 2019.

ISIPATO, M. **Application of microbial electrochemical systems for valorisation of cheese whey in biorefinery framework**. Università degli Studi di Cagliari, 117 p., 2021.

KAREB; O., AİDER; M. Whey and its derivatives for probiotics, prebiotics, synbiotics, and functional foods: a critical review. ***Probiotics and Antimicrobial Proteins***, v. 11, p. 348–369, 2019.

KHALATBARI, S.; SOTANIEMI, V.-H.; SUOKAS, M.; TAIPALE, S.; LEIVISKÄ, T. Microalgae technology for polishing chemically-treated fish processing wastewater. ***Groundwater for Sustainable Development***, v. 24, 101074, 2024, <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2023.101074>

KHALID, A. A. H.; YAAKOB, Z.; ABDULLAH, S. R. S.; TAKRIFF, M. S. Analysis of the elemental composition and uptake mechanism of *Chlorella sorokiniana* for nutrient removal in agricultural wastewater under optimized response surface methodology (RSM) conditions. ***J Clean Prod.***, v. 210, p. 673–686, 2019.

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

KHATIWADA, J. R.; GUO, H.; SHRESTHA, S.; CHIO, C.; CHEN, X.; MOKALE KOGNOU, A. L.; QIN, W. Cultivation of microalgae in unsterile malting effluent for biomass production and lipid productivity improvement. ***Fermentation***, v. 8, p. 186, 2022.

KIRAN, B., VENKATA MOHAN, S. Phycoremediation potential of *Tetradismus sp.* SVMIICT4 in treating dairy wastewater using Flat-Panel photobioreactor. **Bioresour. Technol.**, v. 345, 126446, 2022.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, J. C.; STALPERS, J. A. **Dictionary of the Fungi**. Wallingford: CAB International, ed. 10, 2008.

KUMAR, K.; DASGUPTA, C. N.; NAYAK, B.; LINDBLAD, P.; DAS, D. Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 4945–4953, 2011.

KURAVI, D.; VENKATA MOHAN, S. Mixotrophic cultivation of *Monoraphidium sp.* in dairy wastewater using Flat-Panel photobioreactor and photosynthetic performance. **Bioresour. Technol.**, v. 348, 126671, 2022.

LEE, Y. K. Heterotrophic carbon nutrition. In: Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology (ed A. Richmond), **Blackwell Publishing Ltd**, Oxford, UK, p. 116-124, 2004.

LEE, Y.-J.; LEI, Z. Wastewater treatment using microalgal-bacterial aggregate process at zero-aeration scenario: Most recent research focuses and perspectives. **Bioresour. Technol. Rep.**, v. 17, p. 100943, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100943>.

LELIAERT, F. Green Algae: Chlorophyta and Streptophyta. **Encyclopedia of Microbiology**, p. 457-468, ed. 4, 2019.

LENG, L.; LI, W.; CHEN, J.; *et al.* Co-culture of fungi-microalgae consortium for wastewater treatment: A review. **Bioresource Technology**, v. 330, Article 125008, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125008>

LEON-SAIKI, G. M. *et al.* The impact of day length on cell division and efficiency of light use in a starchless mutant of *Tetradismus obliquus*. **Algal Research**, v. 31, p. 387-394, 2018.

LEONG, Y. K.; CHANG, J.-S. Bioremediation of heavy metals using microalgae: recent advances and mechanisms. **Bioresour. Technol.**, v. 303, 122886, 2020.

LEITE, CLARICE LOGUERCIO; ESPOSITO, ELISA. **Fungos – uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Editora EDUCS, ed. 2, cap. 1, 2010.

LEYA, T. The CCCryo culture collection of cryophilic algae as a valuable bioresource for algal biodiversity and for novel, industrially marketable metabolites. **Appl Phycol.**, v. 3, p. 167-188, 2020.

LI, K.; LIU, Q.; FANG, F.; LUO, R.; LU, Q.; ZHOU, W.; HUO, S.; CHENG, P.; LIU, J.; ADDY, M.; CHEN, P.; CHEN, D.; RUAN, R. Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: a review. **Bioresour. Technol.**, v. 291, 121934, 2019.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: E. Blücher, ed. 2, 2007.

LONG, B.; FISCHER, B.; ZENG, Y.; AMERIGIAN, Z.; LI, Q.; BRYANT, H.; LI, M.; DAI, S. Y.; YUAN, J. S. Machine learning-informed and synthetic biology-enabled semi-continuous algal cultivation to unleash renewable fuel productivity. **Nature Communications**, v. 13, 541, 2022.

LU, Q.; CHEN, P.; ADDY, M.; ZHANG, R.; DENG, X.; MA, Y.; CHENG, Y.; HUSSAIN, F.; CHEN, C.; LIU, Y.; *et al.* Carbon-dependent alleviation of ammonia toxicity for algae cultivation and associated mechanisms exploration. **Bioresour. Technol.**, v. 249, p. 99–107, 2018.

LUTZU, G. A.; CIURLI, A.; CHIELLINI, C.; DI CAPRIO, F.; CONCAS, A.; DUNFORD, N. T. Latest developments in wastewater treatment and biopolymer production by microalgae. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, p. 104926, 2021.

MANO, J.; LIU, N.; HAMMOND, J. H.; CURRIE, D. H.; STEPHANOPOULOS, G. Engineering *Yarrowia lipolytica* for the utilization of acid whey. **Metabolic Engineering**, v. 57, p. 43–50, 2020.

MARKOU, G.; GEORGAKAKI, D. Cultivation of filamentous cyanobacteria (bluegreen algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. **Apple Energy**, v. 88, p. 3389 – 3401, 2011.

MATA, T. M., MARTINS, A. A., CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 217-232, 2010.

MCCUNE, B. New Frontiers in Bryology and Lichenology Lichen Communities as Indicators of Forest Health. **The Bryologist**, v. 103, n. 2, p. 353-356, 2000.

MIAO, M.; YAO, X.; SHU, L.; YAN, Y.; WANG, Z.; LI, N.; CUI, X.; LIN, Y.; KONG, Q. International biodeterioration & biodegradation Mixotrophic growth and biochemical analysis

of *Chlorella vulgaris* cultivated with synthetic domestic wastewater. ***International Biodeterioration & Biodegradation***, v. 113, p. 120-125, 2016.

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. Diário Executivo, 2022. Disponível em: <https://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=56521>. Acesso em: 08 de fev. de 2024.

MOHD HANAFIAH, Z.; WAN MOHTAR, W. H. M.; ABU HASAN, H. *et al.* Performance of wild-Serbian *Ganoderma lucidum* mycelium in treating synthetic sewage loading using batch bioreactor. ***Scientific Reports***, v. 9, Article 16109, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52493-y>

MOLINARO, E. M. **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. EPSJV, IOC, v. 4, Rio de Janeiro, 2010.

MOVAFAGH, A.; GHANATI, K.; AMANI, D.; MAHDAVI, S. M.; HASHEMI, M.; ABDOLAH, D. Z.; SAFARI, S. The structure Biology and Application of Phytohemagglutinin (PHA) in Phytomedicine: With special up-to-date references to lectins. ***Journal of Paramedical Sciences***, v. 4, p. 126-141, 2013.

MOREIRA, C. G.; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. **Fungos em Ambientes Aquáticos Continentais**. Instituto de Botânica – Ibt, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, 2010.

MOSER, G. A.; PIEDRAS, F. R.; OAQUIM, A. B. J.; SOUZA, D. S.; LELES, S. G.; LIMA, D. T.; FERNANDES, A. M. Tidal effects on phytoplankton assemblages in a near-pristine estuary: a trait-based approach for the case of a shallow tropical ecosystem in Brazil. ***Marine Ecology***, v. 38, n. 4, p. 12450, 2017.

MULCAHY, E. M. Preparation, Characterisation and Functional Applications of Whey Protein-Carbohydrate Conjugates as Food Ingredients. Cork, Ireland: **University College Cork**, 2017.

NASCIMENTO, L. V.; VON SPERLING, M. Padrões Nacionais e Internacionais de Lançamento de Efluentes Líquidos em Corpos D'água.

NAGI, G. K.; CHETRY, R.; SINGH, N.; SINHA, A.; SHINDE, O. M. Bioremediation of coke plant wastewater from steel industry with mixed activated sludge–microalgal consortium in lab-scale semi-continuous mode. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, v. 96, p. 2249–2256, 2021.

NAZOS, T. T.; STRATIGAKIS, N. C.; SPANTIDAKI, M.; SPANTIDAKI, A. L.; 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 Biomass Valorization*, v. 14, p. 3643–3655, 2023.

OECD PUBLISHING. OECD-FAO agricultural outlook 2019-2028. **Organization for Economic Co-operation and Development** (OECD), 2019.

OYAMA, T.; KATO, Y.; SATOH, K.; OONO, Y.; MATSUDA, M.; HASUNUMA, T.; *et al.* Development of mutant microalgae that accumulate lipids under nitrate-replete conditions. *Algal Res.*, v. 60, 102544, 2021.

PANGHAL, A.; PATIDAR, R.; JAGLAN, S.; CHHIKARA, N.; KHATKAR, S. K.; GAT, Y.; SINDHU, N. Whey valorization: Current options and future scenario – A critical review. *Nutrition & Food Science*, e. 3, v. 48, p. 520–535, 2018.

PAPANIKOLAOU, S.; AGGELIS, G. Sources of microbial oils with emphasis to *Mortierella (Umbelopsis) isabellina* fungus. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, v. 35, 63, 2019.

PARAGUAI. 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. Disponible em: https://www.mades.gov.py/wp-content/uploads/2019/05/Resolucion_222_02-Padr%C3%B3n-de-calidad-de-las-aguas.pdf. Acesso em: 15 fev. 2024.

PATEL, A. K.; JOUN, J.; SIM, S. J. A sustainable mixotrophic microalgae cultivation from dairy wastes for carbon credit, bioremediation and lucrative biofuels. *Bioresour. Technol.*, v. 313, 123681, 2020.

PEREIRA, C. M. P., *et al.* Biodiesel renovável derivado de microalgas: avanços e perspectivas tecnológicas. *Química Nova*, v. 35 n. 10, p. 2013–2018, 2012.

PEREZ-GARCIA, O., ESCALANTE, F. M., DE BASHAN, L. E. Y BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolismo and potencial products. **Water Research**, 45, p. 11-36, 2011.

PIASECKA, A.; NAWROCKA, A; WIĄCEK, D.; KRZEMIŃSKA, I. Agro-industrial by-product in photoheterotrophic and mixotrophic culture of *Tetrademus obliquus*: Production of $\omega 3$ and $\omega 6$ essential fatty acids with biotechnological importance. **Scientific Reports**, v. 10, n. 6411, 2020.

PINHEIRO, V. E; *et al.* *Trametes versicolor* laccase production using agricultural wastes: a comparative study in Erlenmeyer flasks, bioreactor and tray. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, p. 507-514, 2020.

PIRES, T. A.; CARDOSO, V. L.; BATISTA, F. R. X. Feasibility of *Chlorella vulgaris* to waste products removal from cheese whey. **Int. J. Environ. Sci. Technol.**, v. 19, p. 4713–4722, 2022. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03423-x>

PRAJAPATI, S. K.; BHATTACHRYA, A.; KUMAR, P.; MALIK, A.; VIJAY, V. K. Method for simultaneous bioflocculation and pretreatment of algal biomass targeting improved methane production. **Green Chemistry**, v. 18, p. 5230-5238, 2016. <https://doi.org/10.1039/c6gc01483f>

PRAZERES, A. R.; LUZ, S.; FERNANDES, F.; JERÓNIMO, E. Reduction of Total Phenols, Total Phosphorus and Turbidity by Uncatalytic Oxidation Processes in Cheese Whey Wastewater. **Proceedings**, v. 38, 16, 2019. <https://doi.org/10.3390/proceedings2019038016>

PRIYA, S. S.; RADHA, K. V. A Review on the Adsorption Studies of Tetracycline onto Various Types of Adsorbents, **Chem. Eng. Commun.**, v. 204, p. 821–839, 2017.

PUTZKE, JAIR; PUTZKE, MARISA TEREZINHA LOPES. **Os Reinos dos Fungos**. Editora EDUNISC, ed. 2, v.1, 2004.

QIAN, J.; ZHANG, J.; JIN, Z.; CHENG, J.; LI, J.; SONG, H.; LU, Q.; LI, H.; WAN, T.; FU, S.; *et al.* Enhancing Algal Yield and Nutrient Removal from Anaerobic Digestion Piggery Effluent by an Integrated Process-Optimization Strategy of Fungal Decolorization and Microalgae Cultivation. **Appl. Sci.**, v. 12, 4741, 2022. <https://doi.org/10.3390/app12094741>

QIAO, N.; WANG, C.; DU, Y.; ZHANG, X.; HU, S.; YU, D. *Cunninghamella echinulata* produced from soybean wastewater cleanly harvests oleaginous yeasts in soybean oil refinery

effluent by efficient adhesion and improves microbial lipid quality. *Journal of Cleaner Production*, v. 365, 132813, 2022.

QUIRK, J.; LEAKE, J. R.; JOHNSON, D. A.; TAYLOR, L. L.; SACCONI, L.; BEERLING, D. J. Constraining the role of early land plants in Palaeozoic weathering and global cooling. *Proc. R. Soc.*, v. 282, 2015.

RAJENDRAN, A.; HU, B. Mycoalgae biofilm: Development of a novel platform technology using algae and fungal cultures. *Biotechnology for Biofuels*, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2016.

RAVEN, J. A.; BEARDALL, J. Dark respiration and organic carbon loss. In: Borowitzka, M.A., Beardall, J., Raven, J.A. (eds.) *The Physiology of Microalgae*. 1. ed. Cham Switzerland: Springer, p. 129-142, 2016.

REVIERS, Bruno de. **Biologia e filogenia das algas**. ArtMed Editora, ed. 1, Porto Alegre, 2006.

RICHMOND, A. **Outdoor mass cultures of microalgae: Biological principles, production systems**. In: Richmond, A. (ed.). *CRC Handbook of microalgal mass culture*. CRC Press, Florida, USA, p. 285-330, 1990.

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

ROCHA, S. D. **Biodegradação de Hidrocarbonetos de Petróleo pela Atuação de Fungos Endofíticos Isolados da *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms de Ambiente Aquático da Amazônia**. Dissertação (Mestrado em Química), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Amazonas, 2015.

SAJJADI, B.; CHEN, W.; RAMAN, A. A.; IBRAHIM, S. Microalgae lipid and biomass for biofuel production: A comprehensive review on lipid enhancement strategies and their effects on fatty acid composition. *Renew Sustain Energy Rev*, v. 97, p. 200-232, 2018.

SANTIAGO, A. L. C. M. A.; SOUZA-MOTTA, C. M. *Mucorales* isolados do solo de mineração de cobre e produção de amilase e inulinase. *Acta Botanica Brasilica*, v. 20, p. 641-647, 2015.

SANTOS, E. R. D. **Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos.** Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

SANTOS, C. R.; SILVA, C. H. L.; ROHA, M. Hydrolysate from whey and derivatives: a review of obtaining and bioactivities. *Brazilian Journal of Development*, v. 8, n. 3, 17060, 2022.

SARKAR, B.; CHAKRABARTI, P. P.; VIJAYKUMAR, A.; KALE, V. Wastewater treatment in dairy industries - possibility of reuse. *Desalination*, v. 195, p. 141–152, 2006.

SAROJ, S.; DUBEY, S.; AGARWAL, P.; PRASAD, R.; SINGH, R. P. Evaluation of the efficacy of a fungal consortium for degradation of azo dyes and simulated textile dye effluents. *Sustain Water Resour Manag*, p. 233-243, 2015.

SATPATI, G. G.; DIKSHIT, P. K.; MAL, N.; PAL, R.; SHERPA, K. C.; RAJAK, R. C.; RATHER, S.-U.; 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, 161828, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161828>

SHARMA, D.; MANZOOR, M.; YADAV, P.; SOHAL, J. S.; ASERI, G. K.; KHARE, N. Bio-valorization of dairy whey for bioethanol by stresstolerant yeast. In *Fungi and Their Role in Sustainable Development: Current Perspectives*. Singapore: **Springer**, p. 349–366, 2018.

SHEN, X. F.; HU, H.; MA, L. L.; LAM, P. K. S.; YAN, S. K.; ZHOU, S. B.; *et al.* FAMES production from: *Scenedesmus obliquus* in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures under different nitrogen conditions. *Environmental Science: Water Research & Technology*, v. 4, p. 461–468, 2018.

SILVA, C. E. F.; SFORZA, E.; BERTUCCO, A. Stability of carbohydrate production in continuous microalgal cultivation under nitrogen limitation: effect of irradiation regime and intensity on *Tetrademus obliquus*. *Journal of Applied Phycology*, v. 30, p. 261–270, 2018.

SILVA, P. A. S. **Biorremediação de Efluentes Utilizando *Tetrademus obliquus* Imobilizada em Matriz de Alginato e Quitosana.** Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais, Linha de Pesquisa em Energias Renováveis e não Renováveis, e Biomateriais) – Universidade Federal do Paraná, Cuiabá, 2022.

SINGH, S.; GUPTA, V.K. Biodegradation and bioremediation of pollutants: perspectives strategies and applications. *International Journal of Pharmacology and Biological Sciences*, ed. 1, v. 10, p. 53-65, 2016.

SITHAMPARANATHAN, E.; SUTTON, N. B.; RIJNAARTS, H. H. M.; KUJAWA-ROELEVELD, K. Controlling nitrogen removal processes in improved vertical flow constructed wetland with hydroponic materials: effect of influent COD/N ratios. **Water**, 15 (6), p. 1074, 2023. <https://doi.org/10.3390/w15061074>

SRINUANPAN, S.; CHEIRSILP, B.; PRASERTSAN, P.; KATO, Y.; ASANO, Y. Photoautotrophic cultivation of oleaginous microalgae and co-pelletization with filamentous fungi for cost-effective harvesting process and improved lipid yield. **Aquaculture International**, v. 26, p. 1493–1509, 2018.

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, Article 114152, 2022.

STEFANSKI, F. S. **Utilização de Microalgas Recuperadas e Uso de *Trichoderma koningiopsis* na Produção de Biocompostos com Aplicações Ambientais**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária), Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, 2020.

STOUT, M.; DRAKE, M. Flavor aspects of whey protein ingredients. *Whey Proteins*, pp. 377–406. Cambridge, UK: Academic Press, **Elsevier**, 2019.

SUBRAMANIAN, G.; YADAV, G.; SEN, R. Rationally leveraging mixotrophic growth of microalgae in different photobioreactor configurations for reducing the carbon footprint of an algal biorefinery: a techno-economic perspective. **RSC Advances**, ed. 6, v. 77, p. 72897–72904, 2016.

SÜDFELD, C.; HUBÁČEK, M.; FIGUEIREDO, D.; NADUTHODI, M. I. S.; VAN DER OOST, J.; WIJFFELS, R. H.; *et al.* High-throughput insertional mutagenesis reveals novel targets for enhancing lipid accumulation in *Nannochloropsis oceanica*. **Metab Eng.**, v. 66, p. 239–258, 2021.

SVALOV; A. K. General characteristics and treatment possibilities of dairy wastewater – a review. **Food Technol. Biotechnol**, ed. 1, v. 55, p. 14–28, 2017.

TALLAPRAGADA, P., RAYAVARAPU, B. Recent trends and developments in milk-based beverages. In *Milk-based beverages*, pp. 139–172. London, UK: Woodhead Publishing, **Elsevier**, 2019.

TAN, K. W. M.; LEE, Y. K. The dilemma for lipid productivity in green microalgae: importance of substrate provision in improving oil yield without sacrificing growth. **Biotechnol Biofuels.**, v. 9, 255, 2016.

TAN, L.; ZHUO, R.; LI, S.; MA, F.; ZHANG, X. Differential expression of desaturase genes and changes in fatty acid composition of *Mortierella sp.* AGED in response to environmental factors. **J. Sci. Food Agric.**, v. 97, p. 1876–1884, 2017.

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

TANG, D.; HAN, W.; LI, P.; MIAO, X.; ZHONG, J. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3071-3076, 2011.

TORRES-CRUZ, T. J. *et al.* Presence and distribution of heavy metal tolerant fungi in surface soils of a temperate pine forest. **Applied Soil Ecology**, v. 131, p. 66–74, 2018.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. ed. 10, Porto Alegre: ARTMED, 2012.

TRIPATHI, R.; SINGH, J.; THAKUR, I. S. Characterization of microalga *Scenedesmus sp.* ISTGA1 for potential CO₂ sequestration and biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 74, p. 774-781, 2015.

UFU. UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA. **Atlas Digital de Sistemática de Criptógamas: Fungos**. Disponível em: <http://www.criptogamas.ib.ufu.br/node/1>. Acesso em: 26 fev. 2023.

UNIÃO EUROPEIA. **Diretiva 1998/15/CE**. Diretiva da Comissão Europeia de 27 de fevereiro de 1998 que altera a Diretiva 91/271/CEE do Conselho no que diz respeito a certos requisitos estabelecidos no seu Anexo I, 1998/15/EC. Jornal Oficial da União Europeia 1998 (L 67/29). Disponível em: <http://data.europa.eu/eli/dir/1998/15/oj>. Acesso em: 15 fev. 2024.

VALTA; K., DAMALA; P., ANGELI; E., ANTONOPOULOU; G., MALAMIS; D, HARALAMBOUS; K. J. Current treatment technologies of cheese whey and wastewater by

Greek cheese manufacturing units and potential valorisation opportunities. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, p. 1649-1663, 2017.

VENDRUSCOLO, R. G.; FAGUNDES, M. B.; MARONEZE, M. M.; DO NASCIMENTO, T. C.; DE MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; *et al.* *Scenedesmus obliquus* metabolomics: effect of photoperiods and cell growth phases. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 42, p. 727– 739, 2019.

VERMELHO, A. B *et al.* **Práticas de Microbiologia**. 2. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

VIDYA, D.; NAYANA, K.; SREELAKSHMI, M.; KEERTHI, K.V.; MOHAN, K.S.; SUDHAKAR, M.P.; ARUNKUMAR, K. A sustainable cultivation of microalgae using dairy and fish wastes for enhanced biomass and bio-product production. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 13, p. 6859-6873, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01817-y>

VIEIRA, R. A. **Estudo do cultivo heterotrófico da microalga *Scenedesmus obliquus***. **Master Thesis**. Universidade Federal de Santa Catarina, p. 59, 2018.

WANG, J.; TIAN, Q.; ZENG, W.; QIU, G.; SHEN, L. Insights about fungus-microalgae symbiotic system in microalgae harvesting and wastewater treatment: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 182, Article 113408, 2023.

WANG, R.; GMOSER, R.; TAHERZADEH, M. J.; LENNARTSSON, P. R. Solid-state fermentation of stale bread by an edible fungus in a semi-continuous plug-flow bioreactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 169, Article 107959, 2021.

WANG, Y.-N.; ZHANG, J.-T.; WANG, J.-H.; CHI, Z.-Y.; ZHANG, Q. High robustness of attached *Chlorella sp.* on semi-continuous low strength effluent polishing under axenic and xenic conditions. **Algal Research**, v. 67, 102836, 2022.

WANG, X.; JIANG, J.; GAO, W. Reviewing textile wastewater produced by industries: characteristics, environmental impacts, and treatment strategies. **Water Sci. Technol.**, v. 85, p. 2076–2096, 2022.

XIE, S.; SUN, S.; DAI, S. Y.; YUAN, J. S. Efficient coagulation of microalgae in cultures with filamentous fungi. **Algal Research**, v. 2, p. 28-33, 2013.

XIE, S.; QIN, X.; CHENG, Y.; LASKAR, D.; QIAO, W.; SUN, S.; REYES, L. H.; WANG, X.; DAI, S. Y.; SATTTLER, S. E. Simultaneous conversion of all cell wall components by an oleaginous fungus without chemi-physical pretreatment. **Green Chem.**, v. 17, p. 1657–1667, 2015.

YANG, H.; HE, Q.; HU, C. Feasibility of biodiesel production and CO₂ emission reduction by *Monoraphidium dybowskii* LB50 under semi-continuous culture with open raceway ponds in the desert area. **Biotechnol Biofuels.**, v. 11, Article 82, 2018.

YANG, Y.; JIAN, J.; KUO, C.; ZHANG, W.; LIN, C. Biomass and Lipid Production of *Chlorella* Sp. Using Municipal Wastewater under Semi-continuous Cultivation. **International Proceedings of Chemical Biological and Environmental Engineering**, v. 101, p. 18-25, 2017.

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.

YEHIA, R.S. Highlighting the potential for crude oil bioremediation of locally isolated *Cunninghamella echinulata* and *Mucor circinelloides*. **Braz J Microbiol**, 2023.

YETIS, U.; OZCENGİZ, G.; DILEK, F. B.; ERGEN, N. E.; DOLEK, A. Heavy metal bioabsorption by white-rot fungi. **Water Sci. Technol.**, v. 38, p. 323-330, 1998.

YU, B. S.; YANG, H. E.; SIROHI, R.; SIM, S. J. Novel effective bioprocess for optimal CO₂ fixation via microalgae-based biomineralization under semi-continuous culture. **Bioresource Technology**, v. 364, Article 128063, 2022.

ZHANG, X.; LIU, Y.; LI, Z. R.; ZHANG, J.; CHEN, Y.; WANG, Q. Impact of COD/N on anammox granular sludge with different biological carriers. **Sci. Total Environ.**, v. 728, Article 138557, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138557>

ZHANG, J.; ZHANG, J. The filamentous fungal pellet and forces driving its formation. **Crit. Rev. Biotechnol.**, v. 36, p. 1066-1077, 2016. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1084262>

ZHOU, Q.; SUN, H.; JIA, L.; WU, W.; WANG, J. Simultaneous biological removal of nitrogen and phosphorus from secondary effluent of wastewater treatment plants by advanced treatment: a review. **Chemosphere**, v. 296, Article 134054, 2022.

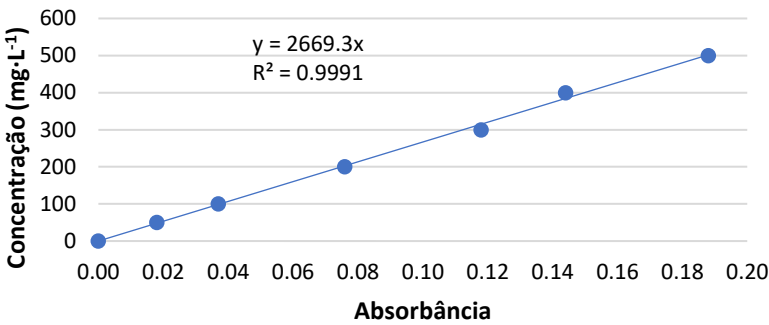
ZONFA, T.; KAMPERIDIS, T.; FALZARANO, M.; LYBERATOS, G.; POLETTINI, A.; POMI, R.; ROSSI, A.; TREMOULI, A. Two-Stage Process for Energy Valorization of Cheese Whey through Bio-Electrochemical Hydrogen Production Coupled with Microbial Fuel Cell. *Fermentation*, v. 9, 306, 2023. <https://doi.org/10.3390/fermentation9030306>

APÊNDICE A – Quadro de resumo dos ensaios realizados

	Nº do Ensaio	Agente Biológico	Carga Orgânica	Configuração/Condição
Etapa 1	1	<i>T. obliquus</i> e <i>C. echinulata</i>	Efluente Bruto	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 6 dias de TRH e coletas diárias.
	2	Contaminantes exógenos	Efluente Bruto	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, 4 dias de TRH e coletas diárias.
Etapa 2	3	<i>T. obliquus</i> e <i>C. echinulata</i>	C1	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 7 dias de TRH e coletas diárias.
	4		C2	
	5		C3	
	6	Contaminantes exógenos	C1	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, 7 dias de TRH e coletas diárias.
	7		C2	
	8		C3	
Etapa 3	9	<i>T. obliquus</i> e <i>C. echinulata</i>	C2	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, 7 dias de crescimento microbiano seguido de 3 ciclos de 3 dias de TRH com reposição de 40% ao final de cada ciclo e coletas diárias.
	10		C3	
	11		C2	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, 7 dias de crescimento microbiano seguido de 3 ciclos de 3 dias de TRH com reposição de 60% ao final de cada ciclo e coletas diárias.
	12		C3	
Etapa 4	13	<i>T. obliquus</i> e <i>C. echinulata</i>	C2	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, suplementação com solução de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ para ajuste em DQO:N = 20, 7 dias de TRH e coletas diárias.
	14		C3	
	15		C2	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, suplementação com solução de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ para ajuste em DQO:N = 30, 7 dias de TRH e coletas diárias.
	16		C3	
	17		C2	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, suplementação com solução de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ para ajuste em DQO:N = 40, 7 dias de TRH e coletas diárias.
	18		C3	
Etapa 5	19	<i>T. obliquus</i> e <i>C. echinulata</i>	C2	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, suplementação com solução de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ para ajuste em DQO:N = 20, 7 dias de crescimento microbiano seguido de 3 ciclos de 3 dias de TRH com reposição de 40% ao final de cada ciclo e coletas diárias.
	20		C3	
	21		C2	Reator coluna de bolhas com 1,5 vvm de aeração, pH inicial de 7,5, suplementação com solução de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ para ajuste em DQO:N = 20, 7 dias de crescimento microbiano seguido de 3 ciclos de 3 dias de TRH com reposição de 60% ao final de cada ciclo e coletas diárias.
	22		C3	

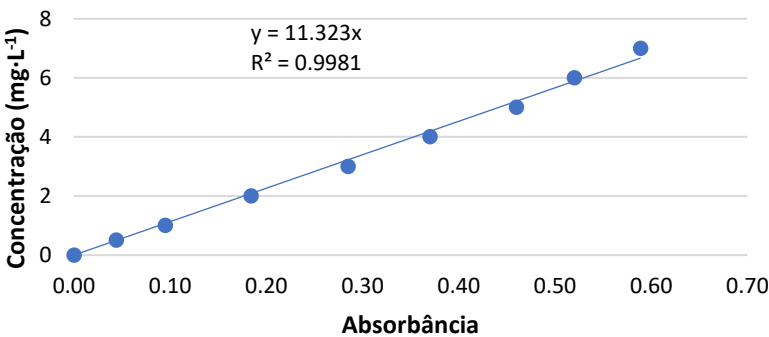
Fonte: Autor, 2024.

APÊNDICE B – Curva de calibração (Demanda Química de Oxigênio – DQO)



Fonte: Autor, 2024.

APÊNDICE C – Curva de calibração (Fósforo Total – FT)



Fonte: Autor, 2024.