

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

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

Bruna Vitória de Almeida Vasconcelos

Maceió

2022

Bruna Vitória de Almeida Vasconcelos

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

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

Orientador: Prof. Dr. Carlos
Eduardo de Farias Silva

Co-orientadora: MSc. Francine
Pimentel de Andrade

Maceió

2022

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

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

V331e Vasconcelos, Bruna Vitória de Almeida.

Estudo do processo semicontínuo de tratamento do soro do leite por microalgas em sistema aberto / Bruna Vitória de Almeida Vasconcelos. – 2022.

47 f. il. : figs. ; tabs. color.

Orientador: Carlos Eduardo de Farias Silva.

Co-orientadora: Francine Pimentel de Andrade.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química).
Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 39-47.

1. Tratamento biológico. 2. Resíduos agroindustriais. 3.
Microorganismos. I. Título.

CDU: 628.35

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho e da minha graduação, sem Ele, eu nada seria.

Agradeço a minha família. Aos meus pais, Josi e Wagner, meus maiores incentivadores e intercessores, que dedicaram todos os esforços para a conclusão dessa etapa. A eles meu maior agradecimento e amor. Às minhas irmãs Rafaela e Sara, por toda força, carinho e auxílio durante todas as etapas da graduação e da vida.

Ao meu amigo e esposo Matheus, pela paciência, companheirismo, carinho e colaboração, não somente na jornada acadêmica, mas em tudo. Por estar ao meu lado nos momentos em que mais precisei, é muito bom compartilhar a vida com você.

Ao Prof. Carlos Eduardo, obrigada pela paciência, pelos ensinamentos, orientação e por sua dedicação ao meio acadêmico. Como também, pela dedicação do seu escasso tempo ao meu trabalho de conclusão de curso.

Por fim, quero agradecer à Universidade Federal de Alagoas e o seu corpo docente que demonstrou estar comprometido com a qualidade e excelência do ensino.

RESUMO

Devido a questões ambientais e necessidade do reciclo de água nas mais diversas atividades humanas, o tratamento biológico pode oferecer uma destinação adequada desses contaminantes provindos de efluentes agroindustriais ou industriais em forma de biomassa, promovendo o ciclo do carbono na natureza e que inclusive podem ser usadas para a obtenção de químicos e energia. Dentro desse contexto as microalgas têm sido estudadas para a remoção de nitrogênio e fósforo de efluentes, mas também de demanda química de oxigênio (DQO) por meio da mixotrofia, uma mistura dos metabolismos autótrofos e heterótrofos. Nesse contexto, e devido à escassez de estudos nessa área, esse trabalho visa a eficiência das microalgas para efluentes agroindustriais alagoanos, em específico o soro do leite. O mesmo foi caracterizado em relação a sua demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio e fósforo total. Foi utilizada a espécie *Tetradismus obliquus* LCE-01, com o soro em concentrações de 1% e na intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{ s})$. O experimento foi realizado de modo semicontínuo, testou-se taxas de reposição volumétrica de 20, 40, 60 e 80% em intervalos de 3 dias. Os experimentos foram monitorados em relação a demanda química de oxigênio, fósforo total, nitrogênio total. A caracterização do soro leite mostrou elevados teores de DQO (em torno de 53 g O_2/L), assim como dos nutrientes essenciais para o metabolismo microalgal, nitrogênio e fósforo (em torno de 1500 e 700 mg/L, respectivamente). Nesse estudo, a microalga removeu significativas quantidades de DQO e nitrogênio total variando entre 50-80 e 48-75%, respectivamente e em função da taxa de reposição. A taxa de remoção de fósforo foi crescente até 40% de taxa de reposição volumétrica. Pôde-se perceber que elevadas variações de pH ocorreram nas maiores taxas de reposição volumétrica e que alteraram a concentração microalgal significativamente, mostrando uma redução na capacidade de remoção de fósforo, apesar da remoção de DQO e nitrogênio total terem sido mais eficientes nessas altas taxas de reposição. Estudos com diferentes cargas orgânicas poderiam ajudar a consolidar os resultados encontrados nesse estudo.

Palavras-chave: Tratamento biológico, efluentes agroindustriais, microrganismos.

ABSTRACT

Due to environmental issues and the need for water recycling in the most diverse human activities, biological treatment can offer an adequate destination of the contaminants present in agro-industrial or industrial effluents in the form of biomass, promoting the carbon cycle in nature and which can even be used for obtaining chemicals and energy. Within this context, microalgae have been studied for the removal of nitrogen and phosphorus from effluents, but also chemical oxygen demand (COD) through mixotrophy, a mixture of autotrophic and heterotrophic metabolisms. In this context, and due to the scarcity of studies in this area, this work aims at the efficiency of microalgae for agro-industrial effluents in Alagoas, specifically whey. First, whey was characterized in relation to its chemical demand of oxygen (COD), nitrogen and total phosphorus. *Tetradismus obliquus* LCE-01 was used, with whey concentrations of 1% (v/v) and light intensity of 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{ s})$. The experiments were carried out in a semi-continuous manner, testing volumetric replacement rates of 20, 40, 60 and 80% at 3-day intervals of volumetric replacement. The experiments were monitored for chemical oxygen demand, total phosphorus, total nitrogen. The characterization of whey showed high levels of COD (around 53 g O_2/L), as well as the essential nutrients for microalgal metabolism, nitrogen and phosphorus (around 1500 and 700 mg/L, respectively). In this study, the microalgae removed significant amounts of COD and total nitrogen varying between 50-80 and 48-75%, respectively, and depending on the replacement rate. The phosphorus removal rate was increasing up to 40% volumetric replacement rate. It could be seen that high pH variations occurred at the highest volumetric replacement rates and that they significantly altered the microalgal concentration, showing a reduction in the phosphorus removal capacity, despite the fact that COD and total nitrogen removal were more efficient at these high removal rates. Studies with different organic loads could help to consolidate the results found in this study.

Key Words: biological treatment, agroindustrial effluents, microorganisms.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS.....	9
2.1 Objetivo Geral.....	9
2.2 Objetivos Específicos.....	9
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.1 Poluição Ambiental	10
3.2 Produção de queijo e seus subprodutos.....	11
3.3 Microalgas no tratamento de efluentes.....	13
3.4 Metabolismo Mixotrófico	15
3.5 Sistema de cultivo de microalgas	17
3.5.1 Sistema Aberto	18
3.5.2 Sistema fechado	19
3.6 Processo semicontínuo	20
4. METODOLOGIA.....	22
4.1 Coleta e armazenamento do soro do leite	22
4.2 Escolha da microalga utilizada.....	22
4.3 Experimentos.....	23
4.3.1 Caracterização do Soro do Leite e análises antes e após o tratamento.....	24
4.3.2 Demanda Química de Oxigênio – DQO	24
4.3.3 Nitrogênio Total	25
4.3.4 Fósforo Total.....	27
4.3.5 Determinação de pH.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1 Caracterização físico-química do soro do leite	29
5.2 DQO	30
5.3 Nitrogênio total	32
5.4 Fósforo total	34
5.5 pH.....	36
6. CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

O soro do leite é o principal poluidor da indústria de laticínios. Em 2019, Alagoas produziu um total de 603,8 milhões de litros de leite, indicando a maior produtividade do Nordeste (IBGE, 2019). No processo de produção de queijo, o soro do leite representa 90% do volume do leite produzido, pois para produzir 1 kg de queijo são necessários de pelo menos 10 L de leite, o que gera até 9 L de soro (LEITE; BARROZO; RIBEIRO, 2012). Portanto, a importância ambiental do soro está relacionada ao volume, ao baixo aproveitamento e ao potencial poluidor (ROHLFES et al., 2011). Além de aumentar a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), também apresentam um grande risco de eutrofização das águas (CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2012).

Diante disso, várias técnicas de tratamento são propostas, entre elas os processos aeróbios e anaeróbios, mas possuem limitação, principalmente na remoção de nitrogênio e fósforo. Nesse sentido, as microalgas têm sido aplicadas eficientemente no tratamento dos mais diversos tipos de efluentes por serem seres mixotróficos, ou seja, capazes de realizar autotrofia e heterotrofia, aliando as vantajosas capacidades de remoção de nitrogênio e fósforo com a remoção de matéria orgânica (KIM et al., 2013; BEHERA et al., 2019). Também possuem a propriedade para geração de biomassa, e o uso de sua biomassa residual para produção de biocombustíveis (SALAMA et al., 2017).

No entanto, é necessário adequar ao processo com estratégias de engenharia visando melhorar sua eficiência e reduzir custos, como por exemplo, aplicação de sistemas semicontínuos (diminuem custos com preparação de inóculo e parada do biorreator), fornecer quando necessário aeração (aumentar a eficiência respiratória ou fotossintética do processo apesar de ser um custo adicional), promover o aumento da incidência luminosa (aumentar a taxa fotossintética de forma a favorecer a remoção de nitrogênio e fósforo) ou mesmo inocular algum microrganismo heterotrófico (aumentando a taxa heterotrófica na remoção principalmente de carbono orgânico).

Nesse contexto, esse estudo traz como objetivo testes de cultivo das microalgas utilizando soro do leite, de modo avaliar diferentes cargas orgânicas e quais seus efeitos no crescimento microalgal, como também, quantifica-se a remoção dos contaminantes e crescimento celular microbiano em um processo semicontínuo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar o processo semicontínuo de tratamento do soro do leite por microalgas em sistema aberto.

2.2 Objetivos Específicos

- Verificar a remoção de DQO, nitrogênio total e fósforo total do soro do leite durante o processo de tratamento em vários ciclos operados em modo semicontínuo;
- Verificar a influência da taxa de reposição volumétrica em um processo semicontínuo;
- Avaliar as mudanças de pH durante a operação do processo em sistema semicontínuo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Poluição Ambiental

Devido ao crescimento populacional, aliado ao aumento da atividade industrial, os problemas ambientais tornam-se cada vez mais críticos e frequentes. Os impactos desses problemas podem ser observados pelas alterações na qualidade do solo, do ar e da água. Em conjugação com esses problemas, tem-se previsões preocupantes para as próximas décadas, baseadas em estudos científicos que apontam a má qualidade das águas, redução do número de espécies, desertificação, assoreamento e, o mais grave de todos, ressaltado pela crescente demanda de água para fins industriais e para o abastecimento das famílias, a escassez. Dentre esses impactos, verifica-se que a contaminação das águas tem sido um dos grandes problemas ambientais da atualidade (SPERLING, 2002).

A legislação ambiental brasileira é uma das mais completas do mundo. Algumas leis podem ser consideradas de grande importância levando em consideração a sua abrangência, entre elas pode-se destacar dezessete leis ambientais que tentam garantir a preservação do patrimônio ambiental do país. Dentre estas dezessete leis cita-se a Lei 6.938 de 17/01/1981 – Lei da Política Nacional do Meio Ambiente. Esta lei define que o poluidor é obrigado a indenizar danos ambientais que causar, independentemente da culpa, criando a obrigatoriedade dos estudos e respectivos relatórios de Impacto Ambiental (EIA-RIMA) (MACHADO, 2012).

Outra lei muito importante, é a Lei 9.605 de 12/02/1998 – Lei dos Crimes Ambientais. Esta lei, por sua vez, reordena a legislação ambiental no que se refere a infrações e punições. Não menos importante, a Lei 9.433 de 08/01/1997 – Lei de Recursos Naturais institui a Política Nacional de Recursos Hídricos e cria o Sistema Nacional de Recursos Hídricos. Esta lei define a água como recurso natural limitado, dotado de valor econômico que pode ter múltiplos usos (MACHADO, 2012).

As indústrias de alimentos e bebidas processam 58% de toda a produção agropecuária do País e representam o maior setor da indústria da transformação brasileira (ABAI - Associação Brasileira da Indústria de Alimentos, 2021). Essas indústrias figuram entre as mais poluidoras devido ao grande volume de água que seus processos requerem. Os efluentes oriundos deste tipo de processo são caracterizados por conter altos teores de proteínas e lipídeos, os quais são responsáveis pelas alterações dos parâmetros de controle ambiental tais como pH, cor, turbidez, demanda química de

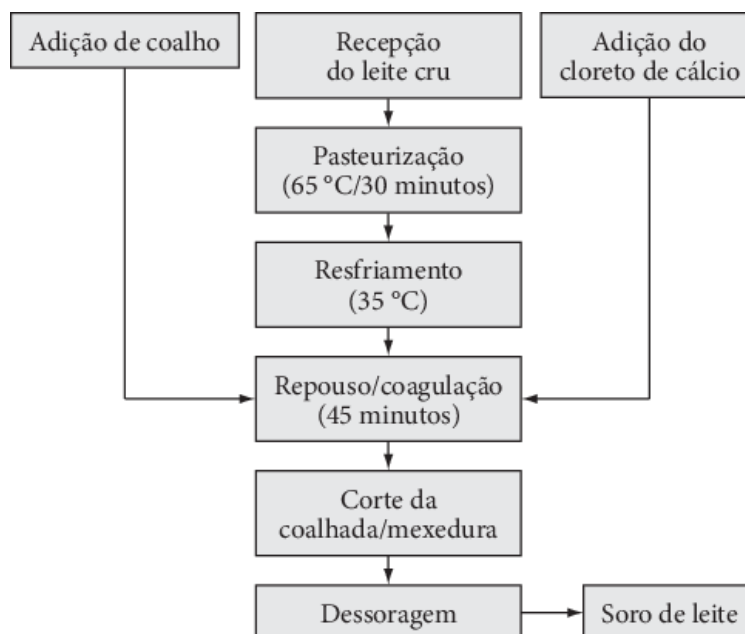
oxigênio (DQO) e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) (METCALF & EDDY, 2003).

3.2 Produção de queijo e seus subprodutos

O Estado de Alagoas se posiciona como o maior produtor de leite do nordeste, representando em média 1,7% da produção nacional, o que corresponde anualmente um total de 603,8 milhões de litros de leite, conforme os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019). Dados coletados da Pesquisa da Pecuária Municipal (PPM) apontam ainda que Alagoas conta com a quinta maior produtividade por animal ordenhado do país (2.410 litros), ficando atrás apenas de Santa Catarina (3.817 litros), Rio Grande do Sul (3.610 litros), Paraná (3.324 litros) e Minas Gerais (3.012 litros). Com os avanços tecnológicos na área da produção de laticínios foi possível melhorar cada vez mais as operações industriais do referido segmento no País. Tal fator se refletiu no ano de 2019, quando a indústria de leite brasileira bateu recorde de produção de 30 milhões de litros (IBGE, 2019).

A produção de queijo é basicamente um processo de concentração do leite no qual parte dos componentes sólidos, principalmente proteína e gordura, são concentrados na coalhada enquanto as proteínas do soro, lactose e sólidos solúveis, são removidos no soro (**Figura 1**). (KOSIKOWSKI, 1982; FOX e MCSWEENEY, 1998).

Figura 1. Processo de produção de queijo e obtenção do soro do leite



Fonte: Fox e Mcsweeney, 1998.

O soro de leite é um coproduto da indústria de laticínios que representa a porção aquosa do leite que se separa do coágulo durante a fabricação de queijo ou da caseína. Apresenta-se como um líquido opaco e de cor amarelo-esverdeada (GIRALDO-ZUÑIGA et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2010). Pode ser obtido em laboratório ou em indústrias de processamento de leite por três operações principais: pela coagulação enzimática, resultando na coagulação das caseínas, matéria-prima para a produção de queijos, e no soro doce; pode ser obtido também pela precipitação ácida no pH isoeletrico das caseínas ($pI = 4,6$), resultando na caseína isoeletrica e no soro ácido; e por último, pela separação física das micelas de caseína por microfiltração, em membranas de $0,1 \mu m$, obtendo-se um concentrado de micelas e as proteínas do soro (MORIN et al, 2007).

O soro de leite representa de 80 a 90% do volume total do leite utilizado durante a produção de queijos e contém, aproximadamente, 55% dos nutrientes do leite: proteínas solúveis, lactose, vitaminas, minerais e uma quantidade mínima de gordura. O soro pode ser utilizado na sua forma original para produção de bebidas lácteas. Porém, considerando o seu alto teor de água e a finalidade de agregar valor ao produto e a seus derivados, o soro pode ser concentrado. O produto concentrado é classificado, então, de acordo com o teor de proteína, e pode ter aplicações diversas, devido a suas características nutricionais e tecnológicas, que vão do seu uso como ingrediente alimentício à produção de medicamentos (ALVES; MOREIRA; MARTINS, 2014).

Entretanto, um grande volume do soro produzido ainda não recebe o tratamento adequado, sendo desperdiçado sob a forma líquida em efluentes, gerando prejuízos sociais, econômicos e ambientais. O atual desenvolvimento tecnológico está permitindo o melhor aproveitamento desta importante fonte de proteínas e lactose a um baixo custo, gerando empregos diretos e indiretos, aumentando a renda dos empresários do ramo e criando maior circulação de capitais, além de diminuir os custos com tratamentos de efluentes e danos ambientais (FOX et. al., 2000).

Este efluente apresenta elevada concentração de DBO ($25.000 - 120.000 \text{ mg DBO L}^{-1}$) e rico em nutrientes (por exemplo, nitrogênio e fósforo), e quando lançado em corpos d'água sem o devido tratamento pode acarretar sérios danos ambientais, por exemplo, eutrofização (OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012). O uso desse efluente para cultivo de microalgas mostra-se benéfico para minimizar o uso de água doce, reduzir o custo de adição de nutrientes, a remoção de contaminantes, e produção de biomassa para biorecursos, como combustíveis.

A demanda por água potável, assim como o tratamento da água utilizada nas mais diversas atividades humanas é uma prioridade deste século (CABANELAS et al. 2013; CUELLAR-BERMUDEZ et al. 2017). Muitos processos biológicos são propostos para o tratamento de efluentes domésticos, industriais e agroindustriais como a biorremediação usando microrganismos ou o consórcio deles – bactérias, microalgas, fungos e protozoários (lagoas de aeração, lagoas anaeróbicas, biorreatores aeróbicos e anaeróbicos, lodo ativado, filtros biológicos e remoção biológica de nutrientes).

3.3 Microalgas no tratamento de efluentes

As microalgas são fábricas de células movidas à luz solar que convertem dióxido de carbono em uma fonte valiosa de possíveis biocombustíveis, alimentos, alimentos para animais e bioativos de alto valor elas fazem parte de grupo heterogêneo de organismos. São predominantemente aquáticos e geralmente microscópicos unicelulares, podendo formar colônias, e apresentar pouca ou nenhuma diferenciação celular. Sua coloração variada é característica oportunizada pela presença de pigmentos e mecanismo fotoautotrófico. As microalgas podem crescer rapidamente e viver em condições adversas, devido a sua estrutura celular simples. São compostas por três bioquímicos básicos: proteínas (30-50%), carboidratos (20-40%) e lipídios (8-15%) (SILVA e BERTUCCO, 2016).

As vantagens de se explorar os organismos fotossintéticos para aplicações industriais, alimentar, biocombustíveis, cosmética, fertilizantes, entre outros, está principalmente na área ambiental, são relevantes para alcançar um futuro sustentável desde que eles promovam o ciclo do carbono, ocasionando a renovação das fontes de carbono. Nesse contexto, as microalgas são bastante promissoras, pois elas apresentam uma rápida taxa de crescimento em comparação com as plantas superiores levando a um maior rendimento de biomassa por área, se apresentam em grande variedade, são encontradas em lagos ou oceanos e possuem uma plasticidade bioquímica singular (podem mudar o metabolismo para a produção diferenciada de determinada fração bioquímica como proteínas, carboidratos e/ou lipídios) (SILVA; SFORZA; BERTUCCO, 2017; KLINTHONG et al., 2015; GAO; ORR; REHMANN, 2016).

A microalga de água doce *Tetrademus obliquus* (anteriormente conhecida como *Scenedesmus obliquus* ou *Acutodesmus obliquus*) é um membro da família Chlorophyceae (Clorófitas ou algas verdes) (CARRERES et al., 2017). É um gênero que

tem sido utilizada no tratamento de efluente, no entanto, muito tem-se a percorrer devido as diferentes características, ou seja, diversidade de efluentes agroindustriais e industriais. Em teoria, um efluente com alto teor de proteínas e fósforo, com uma moderada concentração de DQO (geralmente mais inibitória para as microalgas, mas que pode ser consumido devido a mixotrofia) pode ser um meio favorável ao desenvolvimento das microalgas, sendo potencialmente tratado (SILVA et al., 2019).

Segundo Camejo et al. (2019), a influência de luz, interfere na remoção de DQO, fósforo e nitrogênio, no qual avaliaram o efeito da luminosidade em cultura mista de microalgas (*Scenedesmus* e *Chorella*, e a presença de algumas diatomáceas, bactérias e cianobactérias em menores quantidades), para remediação de um efluente real (DQO = 92 mg L^{-1} , N = $56,6 \text{ mg L}^{-1}$ e P = $6,5 \text{ mg L}^{-1}$). Eles utilizaram três diferentes intensidades de luz (0, 150 e $300 \text{ } \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e diferentes duração e hora do dia da aplicação da luz, em um total de 8 experimentos. As melhores taxas de recuperação de nutrientes (86% para N e 84% para P) e produtividade de biomassa ($100 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) foram alcançadas no ensaio com maior fluxo de fótons líquidos (intensidade luminosa).

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

Vieira et al. (2012) analisaram a eficiência da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli em remover, heterotroficamente, fosfato total dissolvido do efluente do processamento de laticínios. Os resultados mostraram que a remoção de fosfato é fortemente dependente da temperatura do processo. A cianobactéria foi efetiva na remoção de fosfato, alcançando taxas de remoção de $3,77 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, que refletiram em taxas de remoção de 98,4% em tempos de detenção hidráulica de 24 horas.

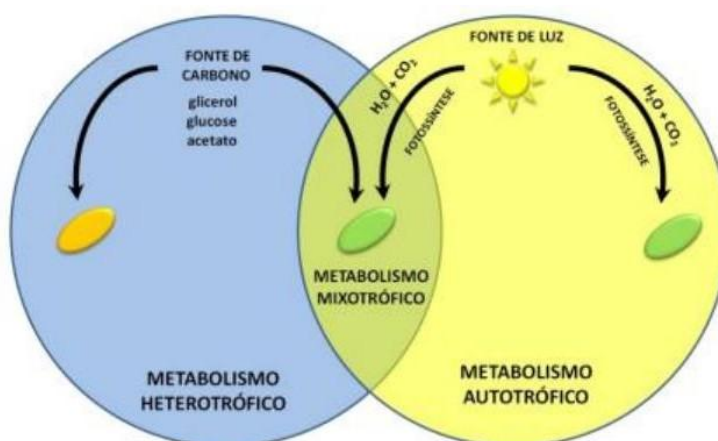
Análises empregadas por Chaves et al. (2012) demonstraram que o efluente da indústria de laticínios proveniente da água de lavagem das máquinas e equipamentos de produção, possuíam cerca de 80.000 mg L⁻¹ de DQO. Após tratamento utilizando a cianobactéria *Spirulina platensis*, obteve-se uma redução de até 93,6% de DQO em frascos de Erlenmeyer. Houve uma progressiva diminuição da DQO, sendo uma alternativa para o tratamento do efluente gerado e para produção da microalga *Spirulina platensis* e seus produtos derivados.

3.4 Metabolismo Mixotrófico

Para o desenvolvimento dos sistemas de cultivo é interessante explorar a diversidade metabólica das microalgas. A escolha do melhor sistema a ser utilizado dependerá do objetivo do cultivo, devido às vantagens e desvantagens de cada um, bem como das características das microalgas utilizadas (ANGELO; ANDRADE; COLOZZI FILHO, 2014).

O metabolismo da microalga pode ser autotrófico, heterotrófico ou mixotrófico (**Figura 2**). No primeiro, as funções são regidas pela fotossíntese. No heterotrófico são disponibilizados nutrientes para que o metabolismo ocorra na ausência de luz. E por último, no cultivo mixotrófico ocorre à atuação de ambos os metabolismos citados anteriormente (MORAIS, 2011).

Segundo Behera et al. (2019) a depender das condições de cultivo, os diferentes tipos de metabolismos das microalgas oferecem vantagens e desvantagens quando aplicadas em tratamento de águas residuais. Microalgas autotróficas têm o benefício de reduzir emissões de Gases do Efeito Estufa (GEE) e alta taxa de remoção de nitrogênio e fósforo. Contudo, a taxa de crescimento é mais lenta quando comparada às microalgas heterotróficas e mixotróficas, pois necessitam de luz para o crescimento e elevados custos de cultivo. Em contrapartida, no metabolismo heterotrófico há uma maior produtividade de biomassa e elevada qualidade e quantidade de lipídios, no qual pode também apresentar uma quantidade significativa de açúcares em comparação com os seres autotróficos. As culturas heterotróficas e mixotróficas possuem como desvantagem a maior facilidade de serem contaminadas por bactérias devido ao uso de compostos orgânicos como fonte de carbono.

Figura 2. Metabolismo Mixotrófico

Fonte: Mariano et al., 2010.

Os organismos mixotróficos são representados por microalgas que adquirem carbono inorgânico por fotossíntese mas também pode usar carbono orgânico dissolvido ou ingerir espécies de presas por fagocitose. Com base em relatos crescentes de fagotrofia em uma ampla gama de espécies de fitoplâncton anteriormente consideradas fototróficos obrigatórios, estudos recentes argumentaram que até mesmo a mixotrofia é a regra e não a exceção nas comunidades planctônicas (FLYNN et al. 2012; HARTMANN et al. 2012).

Existem alguns estudos que exploraram o potencial de cepas mixotróficas, principalmente o gênero *Tetrademus* pois tem sido alvo de diversos estudos para o tratamento de águas residuais e produção de biocombustíveis, devido sua boa adaptação, remoção de nutrientes, e produtividade de biomassa microalgal rica em lipídios/carboidratos entre outros benefícios para o tratamento de efluentes agroindustriais (KIM et al., 2015; FONTOURA et al., 2017; FERREIRA et al., 2018; BENTAHAR et al., 2019).

De acordo com Markou e Georgakakis (2011), caso seja utilizada a iluminação artificial, o cultivo mixotrófico é a possibilidade de economia de energia elétrica. Devido às cepas de microalgas mixotróficas requerem menor intensidade luminosa para o seu crescimento.

3.5 Sistema de cultivo de microalgas

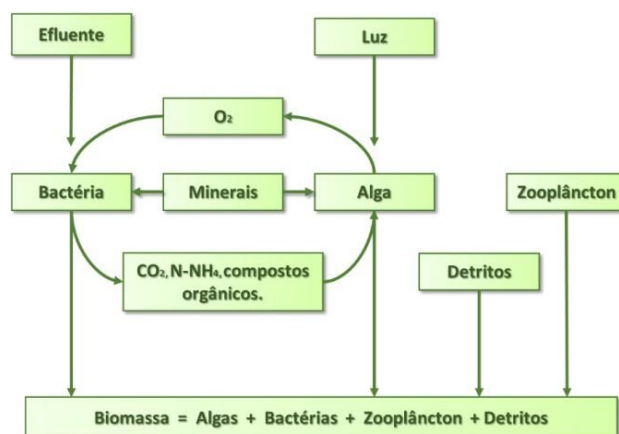
Os meios de cultivo utilizados são desenvolvidos para obter crescimento ótimo das microalgas, para isso, eles devem fornecer nutrientes, minerais e compostos orgânicos necessários ao crescimento e síntese celular.

Os cultivos de microalgas utilizam processos industriais bastante simples, porém, os nutrientes presentes nos meios de cultura são de grande importância para a viabilização desses cultivos. Estudar quais os componentes que devem ser acrescentados em maior ou menor quantidade nos meios de cultura é fundamental para proporcionar melhor desenvolvimento das espécies (LOURENÇO, 2006).

O sucesso para a produção de microalgas em grande escala depende de muitos fatores, sendo o principal, o desenvolvimento de sistemas de cultivo economicamente viáveis. Os fotobiorreatores utilizados podem ser classificados em abertos e fechados. Nos sistemas abertos, a temperatura é o principal fator limitante, assim como variações sazonais de radiação solar que levam a obtenção de baixas concentrações de biomassa (BOROWITZKA, 1999).

Nos sistemas abertos, o cultivo é realizado de modo não asséptico, e por essa razão existe uma interação com microrganismos externos presentes no sistema. Durante o tratamento de efluentes, essa relação pode ser simbiótica (benéfica) e intensificar principalmente a remoção de matéria orgânica. Na **Figura 3**, pode-se visualizar a interação simbiótica que pode existir entre microalgas e bactérias, que se for sinérgica potencializa o sistema de tratamento. Isso pode ser alcançado otimizando os parâmetros ambientais e nutricionais.

Figura 3. Interação dos fatores de maior influência no cultivo externo de microalgas



Fonte: Becker, 1994.

3.5.1 Sistema Aberto

Os sistemas abertos podem ser divididos em águas naturais (lagos, lagoas) ou tanques artificiais (PULZ, 2001). As lagoas fotossintéticas são fotobiorreatores abertos, com profundidade variando de 10 a 50 cm aproximadamente de modo que permita a difusão de dióxido de carbono proveniente da atmosfera e a penetração da luz solar. São construídas em cimento ou terra compactada impermeabilizada por plástico (CHISTI 2007).

O tipo *raceway pond* é o sistema mais comum, no qual a agitação da cultura é realizada por agitação mecânica de pás, sendo utilizado para a produção industrial de microalgas das espécies de *Spirulina*, *Chlorella*, *Arthrospira platensis*, *Anabaena sp.*, *Nannochloropsis* e *Dunaliella* (**Figura 4**) (JORQUERA et al., 2010; CHISTI, 2007).

Figura 4. Sistema de cultivo de microalgas pista de corrida (*raceways*)



Fonte: Clifford, 2015.

Sistema aberto temos grandes vantagens como o baixo custo de investimento e operação, possibilidade de *scale up*, porém sua maior limitação está em não conseguir controlar todo o processo, sistema não estéril causa alto risco de contaminação de outro micro-organismo ou de um predador natural das microalgas diminuindo sua produtividade. O clima tem um alto impacto no processo, a oscilação do clima causa em uma mudança brusca na produtividade. O clima é responsável por fatores de extrema importância no processo como CO₂, tempo e quantidade de iluminação e evaporação (SANTOS et al., 2014).

Logo, um dos principais problemas dos sistemas abertos do tipo tanque é que as produtividades obtidas são menores que as teoricamente possíveis, devido à dificuldade de controle dos parâmetros ambientais de cultivo (JIMÉNEZ et al., 2003).

3.5.2 Sistema fechado

Os fotobiorreatores fechados são geralmente construídos de acrílico ou vidro para uma melhor penetração da luz, há uma área maior de contato com a luz, melhorando a eficiência da fotossíntese.

Entre os tipos de fotobiorreatores, os mais utilizados para remoção de contaminantes nos efluentes industriais apresentam as seguintes configurações: sistemas tubulares verticais (**Figura 5**), horizontais e placas paralelas os quais apresentam apropriada distribuição de luz (PULZ, 2001).

Figura 5. Sistema de cultivo de microalgas tubular



Fonte: Bitog et al., 2009.

Ao contrário das lagoas abertas, há controle da iluminação, pH, temperatura e da intensidade da iluminação, seu meio pode ser esterilizado o que evita contaminação de outros microrganismos, controle da vazão de ar e CO₂, permitindo uma maior produtividade adaptado ao meio de cultivo conseguindo otimizar o processo de acordo com a microalga escolhida (BEHERA et al., 2019).

3.6 Processo semicontínuo

O cultivo semicontínuo é muito empregado industrialmente para microalgas, apresentando vantagens operacionais, como dispensar a constante troca de inóculo, além de manter o microrganismo em elevadas velocidades de crescimento (LOURENÇO, 2006).

O processo de batelada, conhecido como descontínuo, é definido pela adição de nutrientes (meio de cultivo) juntamente com o inóculo, de uma vez só. Neste processo, após um determinado tempo de reação, ocorre a retirada do produto, tempo este que irá depender da cinética desse tipo de reação. Apesar de ser muito utilizado, este processo não permite ao microrganismo condições ótimas de crescimento, devido à depleção do substrato, pois dependendo do tempo de cultivo, alguns nutrientes serão totalmente consumidos antes do término do cultivo. Por outro lado, o processo semicontínuo ou a batelada alimentada consiste na adição contínua de substrato ao longo do cultivo, eliminando o fenômeno de depleção pelos nutrientes e permitindo um aumento no período produtivo do processo. Já o processo contínuo consiste na adição contínua de substrato, havendo também retirada do produto na mesma vazão de alimentação. O cultivo contínuo tem como principal vantagem a redução dos tempos não produtivos, além da possibilidade do microrganismo sofrer mutações genéticas (BORZANI et al., 2001).

Nos cultivos semicontínuo não há número preestabelecido de coleta, de forma que a remoção de cultivo e a substituição por meio de cultura novo podem ser realizadas, em tese, sem limite. Esse procedimento acarreta curvas de crescimento com variações bruscas de densidade celular mas que podem se manter suficientes para preservar o processo por longos períodos.

Microalgas podem fornecer biomassa útil em poucos dias após o início do cultivo. Essas características vêm estimulando grandes investidores a criar fazendas de produção de microalgas de grande porte, como as existentes para cultivar cianobactérias do gênero *Arthrospira* ou algas verdes *Dunaliella* e *Chlorella* (LOURENÇO, 2006).

Ruiz-Marin, Mendoza-Espinosa e Stephenson (2010) estudaram o crescimento de algas em culturas em batelada e semicontínuas, e os resultados mostraram que o modo semicontínuo foi o melhor. Portanto, o cultivo semicontínuo e contínuo apresenta maior taxa de crescimento na produção de microalgas e são amplamente utilizados na prática, principalmente pelo pouco ou inexistência de ‘tempo morto’. O semicontínuo ainda é um

processo de fácil operação podendo depender principalmente de uma única variável, a taxa de reposição volumétrica.

No entanto, o modo semicontínuo e contínuo também enfrentam alguns problemas que precisam ser resolvidos, como o alto investimento para operação e estabilidade incerta para desempenhos de operação de prazo único. Portanto, é necessário desenvolver uma forma de cultivo adequada para o crescimento de diferentes espécies de microalgas otimizando os parâmetros de funcionamento.

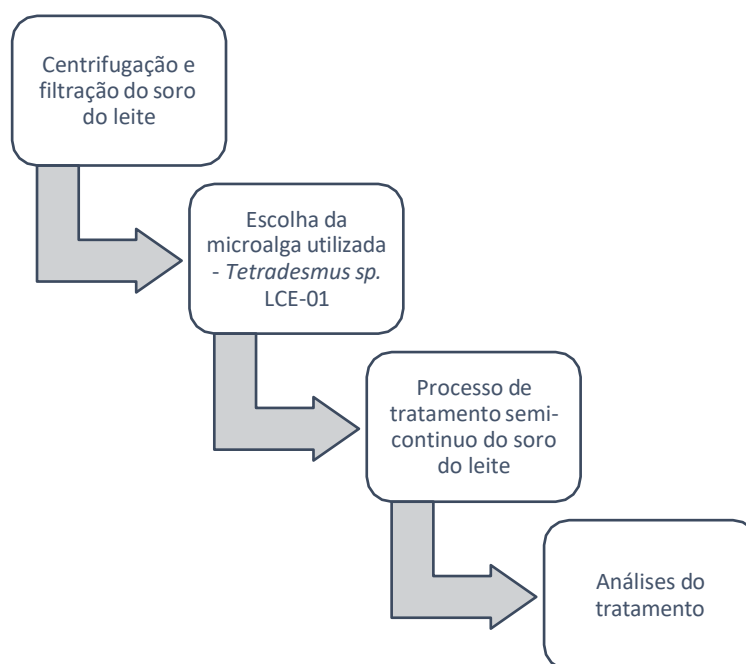
Sendo assim, Ho et al. (2013) utilizando *Scenedesmus obliquus* CNW-N em processo semicontínuo encontraram em taxas de reposição entre 30-50% com intervalos de reposição entre 1,5-2,5 dias, melhores produtividades de biomassa e operou com estabilidades seis ciclos do processo. Em contrapartida, Voltovina et al. (1999), experimentaram um sistema com reposição diária de 50 e 30% do volume contido no reator, alcançando uma remoção de amônia de 79 e 73%, respectivamente. Entretanto, no melhor cenário de remoção, somente 37% do nitrato foi removido (aeração forçada que mantém a cultura suspensa por bolhas de ar e sem suplementação artificial de CO_2 ($420 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $48,4 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$ e $52,4 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$).

Segundo Henrard (2009), com o cultivo semicontínuo é possível a manutenção da cultura de crescimento por tempos mais prolongados, procedendo-se apenas a alimentação periódica do meio de cultivo novo. Apesar de muito utilizado em bioprocessos, esse sistema é pouco estudado para microalgas, principalmente no tratamento de efluentes, havendo poucos trabalhos científicos envolvendo variáveis como concentração de celular e taxa de renovação de meio.

4. METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos – LTBA, que fica localizado no Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas. O fluxograma na **Figura 6** apresenta a sequência das etapas desenvolvidas no trabalho.

Figura 6. Fluxograma das etapas desenvolvidas no trabalho



Fonte: Autora, 2022.

4.1 Coleta e armazenamento do soro do leite

O soro do leite utilizado foi coletado no Instituto Federal de Alagoas – Campus Satuba (9°34'29.08"S 35°49'15.25"O) em abril de 2021, sendo um subproduto da produção de queijo coalho. O qual foi armazenado sob congelamento de (-12 a -18°C) no Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos (LTBA) e Laboratório de Bioprocessos (LabBio) no Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas, onde passou por um processo de separação de partículas sólidas grosseiras através de centrifugação (3000 rpm e 15 min) e filtração em papel de filtro qualitativo para remoção apenas da parte líquida do efluente.

4.2 Escolha da microalga utilizada

A microalga utilizada foi a espécie *Tetrademus sp.* LCE-01. A manutenção da microalga em meio solidificado de ágar nutriente (Kasvi ®), e em meio líquido para uso

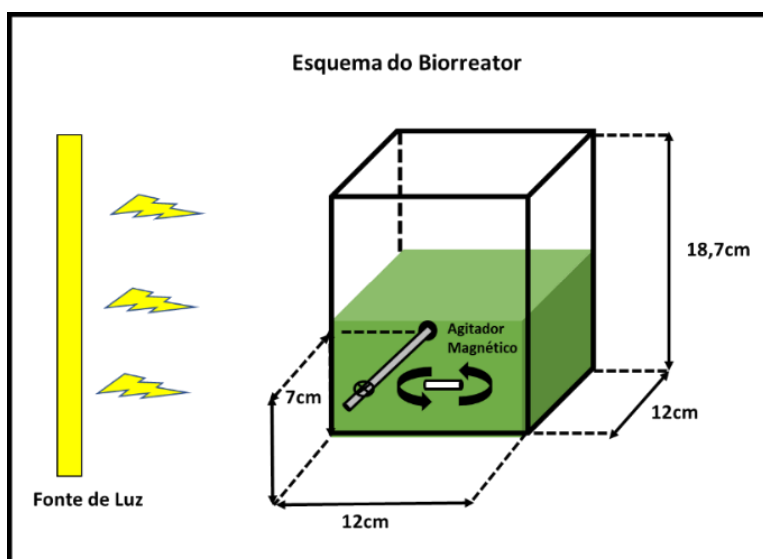
como inóculo de BG-11 (*blue-green medium*) (RIPPKA et al, 1973). As concentrações de inóculo nos tanques foram de aproximadamente 50 mg/L de peso seco celular, com a finalidade de verificar a adaptabilidade da microalga em manter a dominância e se adaptar a simbiose com possíveis contaminantes do sistema aberto.

4.3 Experimentos

Foram utilizados como biorreatores vasos de acrílico transparente (PoliControl®) com dimensões de 18,7 cm x 12 cm x 12 cm com iluminação fornecida artificialmente durante todo o período do experimento (Plafon LED 25W 6500K) conforme (**Figura 7**). A fonte luminosa utilizada possuía fluxo constante, com isto a intensidade luminosa fornecida para os reatores era controlada pela distância entre a fonte de luz e o reator, com fonte luminosa irradiando uma superfície lateral de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ medidas por um radiômetro (HD 2302.0 - Delta OHM). O volume inicial utilizado em cada experimento foi de 1,5 L, em concentração de soro do leite a 1% (v/v), agitados magneticamente (SP LABOR®), e realizados a temperatura ambiente de aproximadamente 30-35 °C com faixa de pH entre 8,0-8,5 ao início.

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

Figura 7 - Esquema do sistema de tratamento utilizado na pesquisa.



Fonte: Autora, 2022.

4.3.1 Caracterização do Soro do Leite e análises antes e após o tratamento

Foram realizadas as seguintes análises para a caracterização do soro do leite: nitrogênio total, fósforo total e demanda química de oxigênio (DQO). Todas as análises estão com suas respectivas metodologias na **Tabela 1**:

Tabela 1. Procedimentos analíticos realizados para a caracterização físico-química do soro do leite

ANÁLISE	MÉTODO/REFERÊNCIA
Nitrogênio Total	Kjedahl adaptado; IAL, 2005.
Fósforo Total	Ácido ascórbico; APHA, AWWA, WEF, 2017
DQO	Digestão com dicromato; APHA, AWWA, WEF, 2017

Fonte: Autora, 2022.

As amostras após serem coletadas passaram por centrifugação a 3500 rpm por 15 min (Centrifuga ACB Labor Dry-Bloch), para separar a fase sólida (lodo microbiano) da líquida, onde os demais contaminantes são medidos. Em seguida, principalmente para determinação da DQO, as amostras passaram em filtros de nitrato e nitrato acetato celulose de 0,22 e 0,45 μm , respectivamente; para eliminar eventuais sólidos que possam não ter sido eficientemente removidos na centrifugação e que afetam significativamente as análises.

4.3.2 Demanda Química de Oxigênio – DQO

Nessa análise os tubos de ensaio utilizados foram lavados com H_2SO_4 20% para eliminação de interferentes de amostras anteriores. Neles foram adicionados 1,5 mL da solução de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio), 2,5 mL da amostra previamente filtradas (filtros de 0,45 e 0,22 μm) e 3,5 mL do reagente de ácido sulfúrico (sulfato de prata diluído em ácido sulfúrico) (APHA, AWWA, WEF, 2017). Os quais foram agitados e colocados no bloco digestor a 150°C por 2 horas. Após o período de digestão, as amostras foram agitadas, resfriadas submetidas a leituras no espectrofotômetro a 600 nm (Shimadzu, UV-mini 1240). O valor obtido no espectrofotômetro é expresso em $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ de DQO.

Para preparo da solução de digestão adicionou-se em 125 mL de água destilada 2,554 g de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), previamente seco em estufa a 103°C por 2 horas, 41,75 mL de ácido sulfúrico, 8,325 g de HgSO_4 . Após dissolver e esfriar completou-se o volume em balão volumétrico de 250 mL com água destilada. No caso do reagente de ácido sulfúrico: adicionou 2,03 g de sulfato de prata (Ag_2SO_4) em 200 mL de

ácido sulfúrico concentrado. A dissolução completa do sulfato de prata demorou cerca de 24 horas. Por fim, a solução padrão de Bifalato de potássio: pesou-se 425,0 mg Bifatalato de potássio, $\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$, previamente seca em estufa a 120°C por 2 horas, e dissolveu em água destilada até o volume para 1000 mL em balão volumétrico. Esta solução é estável por até 3 meses quando guardada sob refrigeração. Relação teórica entre o biftalato de potássio e a DQO: 1 mg de biftalato de potássio = 1,171 mg O_2 . Com base na análise gráfica (**Figura 8**) é possível verificar a linearidade da reação e calcular um fator de conversão de valores de absorbância em concentração.

Cálculo:

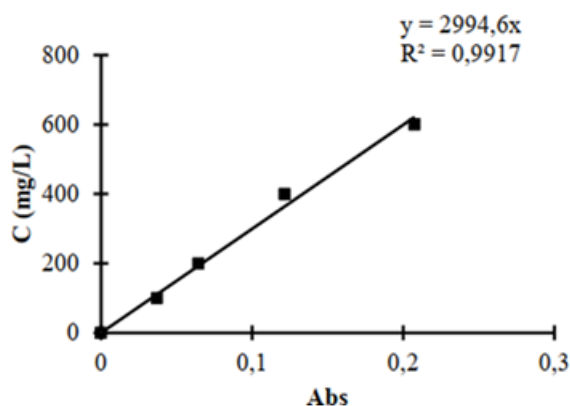
$$\text{DQO (mg/L)} = 2994,6 * \text{Abs} * \text{Diluição} \quad (2)$$

Onde:

Abs = Valor da absorbância obtida em espectrofotômetro;

Diluição = Diluição da amostra.

Figura 8. Curva padrão de DQO.



Fonte: Autora, 2022.

4.3.3 Nitrogênio Total

O procedimento utilizado foi uma adaptação do Método de Kjeldahl adaptado para efluentes agroindustriais, consistindo como na metodologia de 3 etapas: digestão da amostra, destilação e titulação (IAL, 2005).

A primeira etapa consiste na digestão da matéria orgânica no qual foram adicionados 5 mL da amostra, 1g de mistura catalítica (sulfato de sódio, sulfato de cobre e dióxido de selênio na proporção 100:1:0,8) e 10 mL de ácido sulfúrico PA, em tubos de Kjeldahl, e em seguida aquecido em bloco digestor (TECNAL, TE007 MP), a temperatura foi elevada suavemente atingindo cerca de 300°C, as amostras digeridas apresentaram coloração incolor ou levemente esverdeada.

Na segunda etapa ocorreu a destilação do nitrogênio. Nos tubos onde ocorreu a digestão, após se resfriarem à temperatura ambiente, foram adicionadas de um pouco de água cuidadosamente, e 2 gotas de fenolftaleína 1% sendo em seguida acoplados no destilador de nitrogênio (TECNAL, TE-0363), inseriu-se NaOH 40% até pH alcalino (mudança da coloração para rosa). Iniciou-se processo de aquecimento da amostra (início do processo de destilação) sendo o destilado coletado em um erlenmeyer de 250 mL contendo ácido bórico. O Erlenmeyer continha 25 mL de ácido bórico 4%, 2 gotas do indicador vermelho de metila 0,25% e 2 gotas do indicador verde de bromocresol 0,2%. A destilação ocorreu até que se recolheu um volume de destilado de aproximadamente 100 mL. Por fim, a solução do erlenmeyer foi titulada com ácido clorídrico 0,001 N padronizado até o aparecimento da coloração rosada.

Cálculo:

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

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.

Padronização da solução de ácido clorídrico: Colocou-se certa quantidade de carbonato de sódio (Na_2CO_3 PM=106) em estufa a 100°C por 1 hora, deixou esfriar em dessecador por 15 minutos. Pesou cerca de 0,25g de bicarbonato isento de umidade, dissolveu em água isenta de CO_2 (previamente fervida), adicionou-se 2 gotas de alaranjado de metila. Titulou-se com a solução de HCl até a primeira coloração.

Cálculo:

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

Onde:

f = Fator de correção da solução de ácido clorídrico;

m = massa do bicarbonato;

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

N = Normalidade ácido clorídrico.

4.3.4 Fósforo Total

Foi utilizado o método do ácido ascórbico (APHA, AWWA, WEF, 2017). Em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL da amostra e 0,4 mL da solução desenvolvedora de cor, tampou-se os tubos e aguardou-se cerca de 10 min, em seguida foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 706 nm (Shimadzu, UV-mini 1240).

Cálculo:

$$\text{Fósforo Total (FT) (mg/L)} = \frac{11,031 \cdot Abs \cdot Diluição}{\quad} \quad (5)$$

Onde:

Abs = Valor da Absorbância obtida em espectrofotômetro;

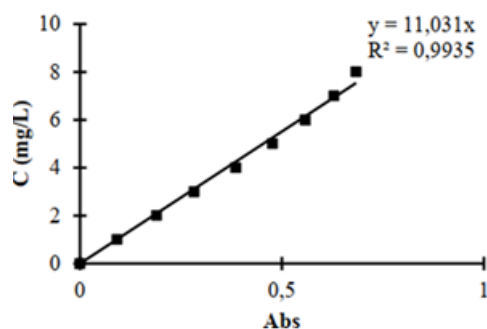
Diluição = Diluição da amostra.

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

- Solução A: ácido sulfúrico 5 N;
- Solução B: tartarato misto de antimônio e potássio hemihidratado: 1,3715g de K(SbO)C₄H₄O₆.1/2H₂O para 500 mL de água;
- Solução C: mobilidato de amônio: 20 g de (NH₄)₆Mo₇O₂₄ .4.H₂O p/ 500mL de água;
- Solução D: ácido ascórbico 0,01M, 1,76 g p/ 100 mL de água.

Com base na análise gráfica (**Figura 9**) é possível verificar a linearidade da reação e calcular um fator de conversão de valores de absorbância em concentração.

Figura 9. Curva padrão de Fósforo total.



Fonte: Autora, 2022.

4.3.5 Determinação de pH

Transferiu-se uma alíquota da amostra para um Becker. Assim, o pH dos cultivos foi acompanhado utilizando-se o método potenciométrico, por meio de um medidor de pH, previamente calibrado com solução tampão de 4,0 e 7,0, operando de acordo com as instruções do manual do fabricante (TECNAL).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-química do soro do leite

Na **Tabela 2** está disposta a caracterização físico-química do soro do leite. Estas elevadas concentrações foram confirmadas por Saddoud, Hassaïri e Sayasdi (2007) em um soro do leite cru que possuiu concentrações de $68.600 \pm 3300 \text{ mg.L}^{-1}$, $1.120 \pm 10 \text{ mg.L}^{-1}$ e $500 \pm 1,8 \text{ mg.L}^{-1}$, para DQO, nitrogênio e fósforo, respectivamente.

Tabela 2. Caracterização físico-química do soro de leite.

Parâmetro	Concentração
DQO ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$)	$52.886,90 \pm 269,25$
Nitrogênio total (mg N L^{-1})	$1.563,82 \pm 35,00$
Fósforo Total (mg P L^{-1})	$663,50 \pm 12$
pH	6,33

Fonte: MEDEIROS, 2022.

Leifeld e Marques (2013) avaliaram a quantidade de sólidos totais, DQO, nitrogênio e fósforo total em diferentes tipos de soro de leite. A composição em sólidos totais dos soros não apresentou grandes variações, permanecendo entre 6,14-7,32%. Obtiveram-se valores elevados de DQO, sendo os maiores valores encontrados na faixa de 136-170 $\text{g O}_2 \text{ L}^{-1}$. O valor médio de nitrogênio total nas amostras manteve-se em 1500 mg L^{-1} e os teores de fósforo variaram entre 79-168 mg L^{-1} . Os resultados obtidos demonstraram o quão danoso este efluente pode ser se lançado livremente nas águas.

As diversas fontes animais do leite, assim como, os diferentes processos de obtenção dos produtos influenciam na alteração dos números da caracterização do soro.

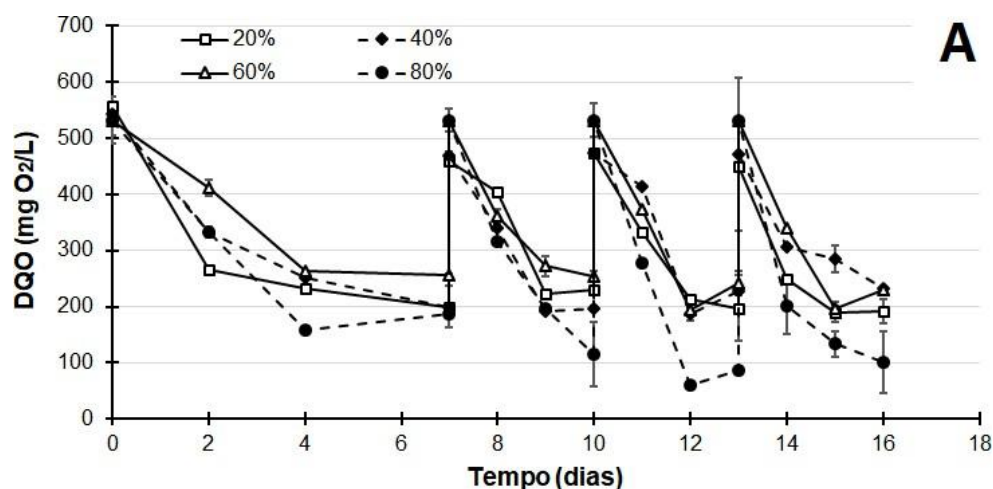
Para o desenvolvimento de microalgas como a *C. vulgaris*, o pH do cultivo deve ser inferior a 9,0 mas alcalino para se obter uma produção significativa. A produção de biomassa algacea quando se utiliza meio alternativo para a sua nutrição tem no valor do pH uma variável a ser acompanhada, pois esta pode afetar no crescimento das mesmas, devido aos seus altos valores naturalmente (TREVISAN et al., 2013). Logo para o cultivo e manutenção do processo o pH necessita ser corrigido para valores entre 7,5-9,0.

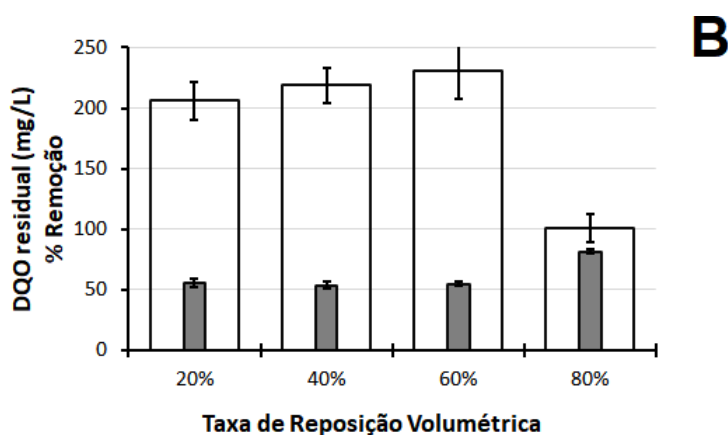
Bentahar et al. (2019) utilizaram com sucesso o permeado de soro do leite ácido (subproduto da produção de iogurte tipo grego, pH $3,84 \pm 0,03$, mas corrigido para alcalino) como meio de cultivo da *Tetrademus obliquus* para produção de biomassa e da enzima β -galactosidade. Foram obtidas concentrações de biomassa até 5 g.L^{-1} e atividades enzimáticas volumétricas até 400 U L^{-1} .

5.2 DQO

Percebe-se que houve repetibilidade dos ciclos mostrando estabilidade na remoção de DQO pelo sistema (**Figura 10A**). Cabe ressaltar que o sistema é aberto, portanto está sujeito à contaminação, e que possa haver uma simbiose (logo, benéfica) para os processos de remoção de matéria orgânica e inorgânica. No entanto, é importante que a taxa de reposição volumétrica garanta que tenha restado inóculo suficiente para em 3 dias de tempo de troca volumétrica haja a eficiente remoção dos contaminantes, o que para DQO se mostrou interessante. Encontrou-se taxas similares de remoção de DQO em torno de 50%, tendo um leve aumento entre 20-60%, mas em 80% de taxa de realimentação houve uma considerável remoção, chegando próximo aos 80% de remoção do contaminante (**Figura 10B**). É um comportamento inesperado, visto que com a retirada de 80% de volume do sistema, em teoria restaria pouco inóculo para haver a remoção.

Figura 10. Remoção de DQO no tratamento de soro do leite 1% (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica. A) Acompanhamento cinético, B) % de Remoção (barras cinzas) e DQO residual (barras brancas).





Fonte: Autora, 2022.

A concentração residual de DQO para o soro do leite a 1%, foi em torno de 200-250 mg L⁻¹ o que está ainda acima da norma europeia para lançamento em corpos hídricos de 125 mg L⁻¹ e um % mínimo de tratamento de 75% (European Union Legislation, 1991), alcançada somente quando se utiliza 80% de reposição volumétrica.

Em contrapartida, Viegas, Gouveia e Gonçalves (2021) utilizando *Chlorella vulgaris* e *Tetrademus obliquus* no tratamento de águas residuais de matadouro de aves em processo semicontínuo com a taxa de reposição entre 10-30% e tempo de retenção hidráulica (HRT) de 2 dias, conseguiram uma remoção significativa de mais de 92% nas taxas de reposição de 10 e 20%, alcançando valores menores que o estabelecido pela legislação europeia.

Um exemplo de estudo que avaliou a remoção de DQO por *Chlorella* sp. foi realizado por Li et al. (2011), cultivada em efluente urbano altamente concentrado, rico em fósforo (NH₄⁺ – N = 85,9 mg L⁻¹, Fósforo Total = 215,1 mg L⁻¹, DQO= 2389,5 mg O₂ L⁻¹). Experimentaram um sistema com reposição diária de 50% do volume contido no reator, com intensidade luminosa de 50 μmol m⁻² s⁻¹. Nos dois primeiros dias de cultivo a concentração de DQO reduziu drasticamente para 230 mg O₂ L⁻¹. No final da experiência foi alcançado uma remoção de 90,8%.

Amini et al. (2020), utilizaram algal-bacteriano (*Chlorella vulgaris* e lodo ativado) em 3 diferentes proporções (5:1, 1:1, e 1:5) para tratar águas residuais municipais por foto-bioreatores em processo semicontínuo, afim de alcançar um método de tratamento rentável ao eliminar o arejamento mecânico. Em 21 dias, removeram 96, 95 e 97% de DQO disponível para as respectivas proporções, sob a taxa de reposição volumétrica de 15%, com um tempo de retenção hidráulica fixa (HRT) de 7 dias, operado em temperatura

ambiente (cerca de 25 °C) e foram iluminados por lâmpadas fluorescentes (com uma densidade de luz de 2000 lux) sob um fotoperíodo de 12:12-h luz/escuro.

Lee et al. (2019) utilizando *Coelastrum microporum* com lodo ativado para tratar esgoto doméstico alcançaram uma remoção de até 78% de DQO em 15 dias (com intensidade da luz de $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, em ciclo claro e escuro ajustado para 12 h (claro):12 h (escuro), a temperatura de cultivo era de 25°C, sob aeração feita a 0,2 vvm, operada com tempos de retenção hidráulica (HRT) de 3 e 5 dias).

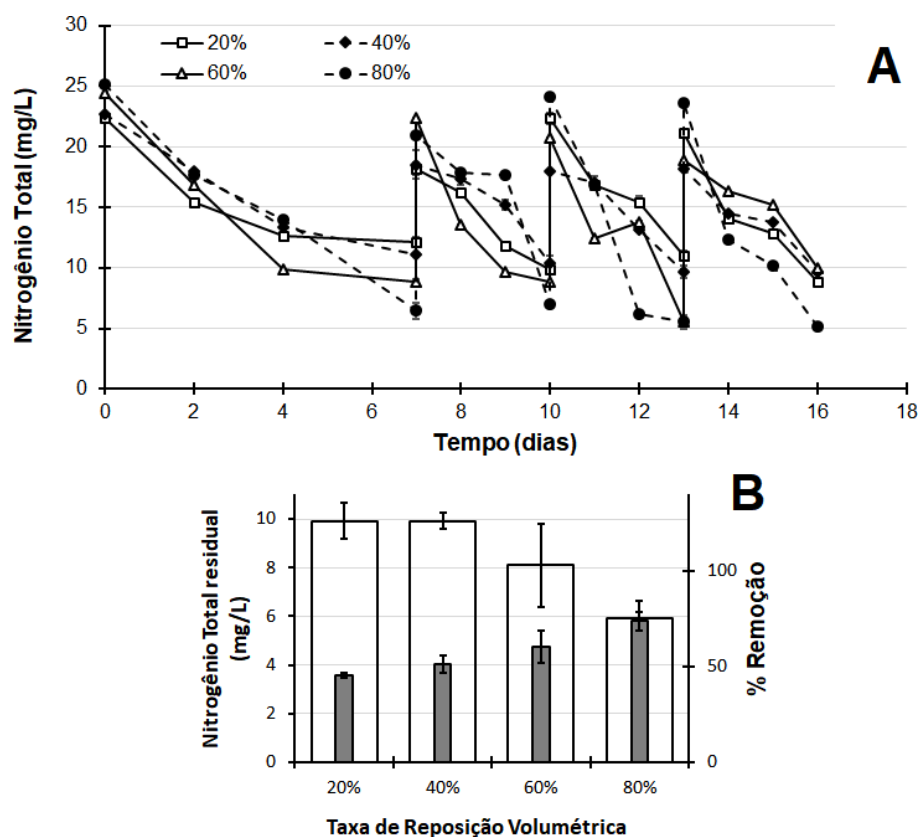
Deste modo, a eficiência na remoção de DQO em culturas de diversas microalgas fica evidenciada para diferentes características de efluentes e configurações de sistema operados em modo semicontínuo, mesmo ainda não alcançando na maioria dos casos valores suficientes para descarte em corpos hídricos segundo a legislação europeia. No Brasil, não há ainda uma referência para DQO.

Outra alternativa para tentar baixar a concentração de DQO a níveis satisfatórios para a descarga em corpos hídricos, é o uso ou não de aeração forçada a depender das características do efluente, do sistema, da simbiose com outros microrganismos e dos parâmetros operacionais, pois na literatura encontram-se trabalhos que utilizam microalgas em sistemas abertos que tratam o efluente inserindo (LIZZUL et al., 2014; JI et al., 2013; KHOO; LAM; LEE, 2016) ou não aeração forçada (VAZIRZADEH et al., 2021).

5.3 Nitrogênio total

Para nitrogênio total, obteve-se um aumento da remoção de nitrogênio total em função da taxa de reposição alcançando entre 48-75% de remoção desse contaminante entre as taxas de realimentação de 20-80% (**Figura 11A**). No entanto, a concentração residual que variou entre 6-9,8 mg L⁻¹ (**Figura 11B**), mostrou-se adequada segundo a normativa europeia que preconiza 10-15 mg L⁻¹ (European Union Legislation, 1991), mas também é indicado uma percentagem de 70-80% de tratamento alcançado apenas quando 80% de taxa de reposição foi usada. Logo tratar nesse volume poderia alcançar os requisitos da legislação para lançamento em corpos hídricos.

Figura 11. Remoção de Nitrogênio Total no tratamento de soro do leite 1% (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica. A) Acompanhamento cinético, B) % de Remoção (barras cinzas) e Nitrogênio Total residual (barras brancas).



Fonte: Autora, 2022.

O nitrogênio tem um papel fundamental na formação de biomassa microbiana, e as microalgas adquirem função principal nesse papel. Inclusive a adição de microalgas durante o tratamento visa principalmente haver remoção de N e P para atender aos requisitos legais, uma vez, que a matéria-orgânica é mais eficientemente removida por bactérias e fungos (POFFENBARGER; COYNE; FRYE, 2013).

Conforme pode ser observado no estudo conduzido por Viegas, Gouveia e Gonçalves (2021), com *Chlorella vulgaris* e *Tetrademus obliquus* em 28 dias foram alcançadas taxas de remediação de 100% para nitrogênio total disponível com diferentes reposições volumétricas entre 10-30% e 2 dias de HRT. Ji et al. (2013) utilizando *Scenedesmus obliquus* alcançaram uma remoção de 100% de nitrato em 7 dias (sob intensidade luminosa de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aeração forçada, com concentração inicial de $0,5 \text{ mg de NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$, $38 \text{ mg de NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ e $5,2 \text{ mg de PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$).

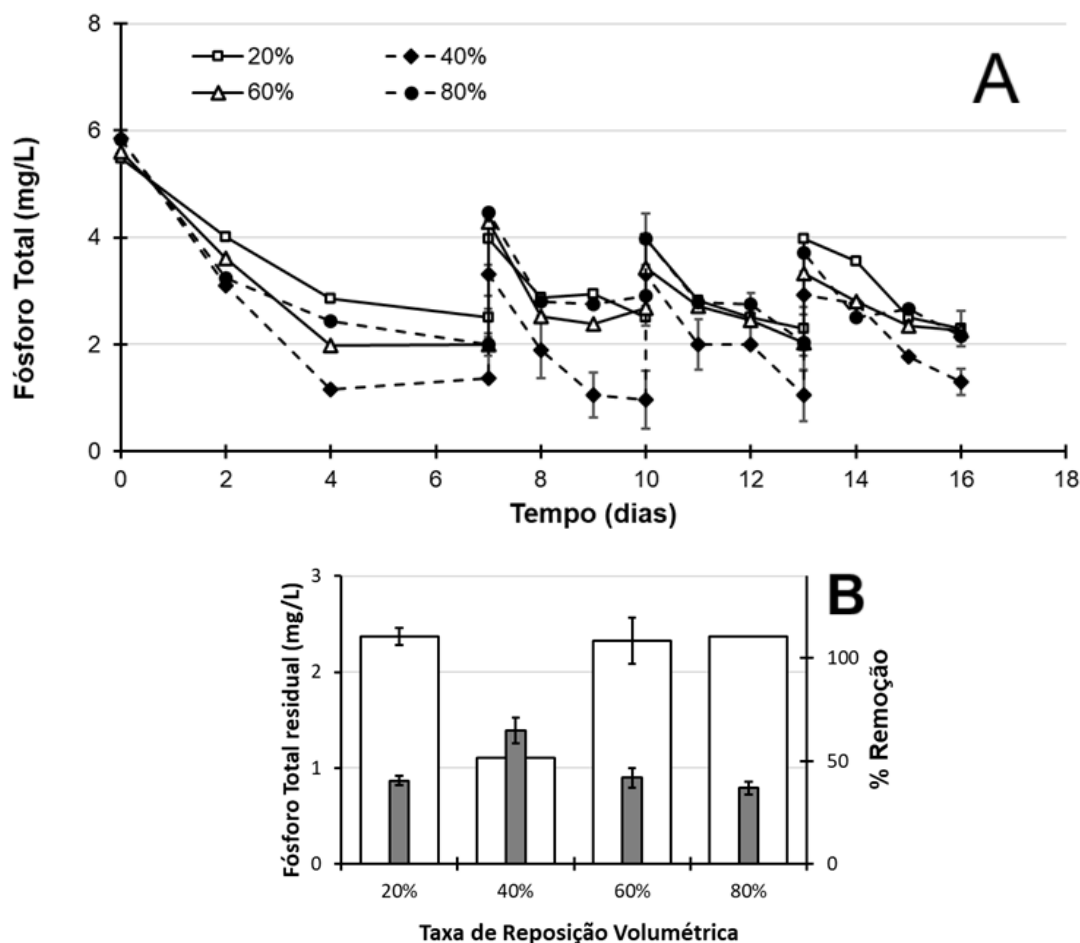
Ruiz-Marin, Mendoza-Espinosa e Stephenson (2010), estudaram o crescimento e remoção de nutrientes por *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris* em culturas semicontínuas. Os resultados trazem uma média de 87% de remoção de nitrogênio durante 4 ciclos de operação utilizando efluente urbano (esgoto) contendo 34-48 mg L⁻¹ de N em forma de amônia e 4,2 mg L⁻¹ de N em forma de nitrato (200 μmol m⁻² s⁻¹, agitados com células imobilizadas em alginato e aeração superficial, tempo de reposição volumétrica de 35 h).

Em um estudo conduzido por Samorì, Samorì e Pistocchi (2014) que avaliou o desempenho da microalga *Desmodesmus communis* na remoção de contaminantes, constatou que para as condições do experimento de 140 μmol m⁻² s⁻¹, aeração forçada a 0,14 vvm, 2% de CO₂ ar, 39,3 mg de NH₄⁺ L⁻¹ e 7,3 mg de PO₄³⁻ L⁻¹, que é possível remover 99% desses contaminantes em 5 dias, com reposição volumétrica de 67% do reator, ou em 3 dias de detenção hidráulica e 33% de reposição volumétrica do reator. Além disso, foi testado ainda o desempenho para 1,5 dias e reposição de 20% do reator, tendo esta última configuração removido somente 47% da amônia presente, apesar de remover 99% do fósforo total.

5.4 Fósforo total

Para a remoção de fósforo, percebeu-se que ela foi crescente até 40% de taxa de reposição volumétrica, decaindo nos valores de 60-80% (**Figura 12**). Percebeu-se uma redução na concentração de microalgas nessas taxas maiores, provavelmente pela remoção de grande quantidade de massa microalgal e nos 3 dias de tempo de troca volumétrica serem pouco para a restituição da flora original, e verifica-se que isso influencia bastante no processo de remoção de fósforo do sistema.

Figura 12. Remoção de Fósforo Total no tratamento de soro do leite 1% (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica. A) Acompanhamento cinético, B) % de Remoção (barras cinzas) e Fósforo Total residual (barras brancas).



Fonte: Autora, 2022.

A remoção de fósforo, seja em processos aeróbios que anaeróbios é de fundamental importância pois sua alta concentração é diretamente ligada ao processo de eutrofização de corpos hídricos, aliado a nitrogênio (LI et al., 2017). É citado na literatura da dificuldade de remoção biológica de fósforo e que os efluentes possam passar por processos adicionais de polimento (LI et al., 2019; MANIRAFASHA et al., 2016; TANG et al., 2020; YU et al., 2018).

Pelos resultados, percebe-se que tratando o soro do leite, mesmo diluído, há ainda influência da presença de microalgas em concentração adequada para eficiência no processo de remoção de fósforo, ressaltando a importância de inclusão delas no sistema. A concentração máxima de fósforo segundo legislação europeia é de no máximo 2 mg L^{-1} (European Union Legislation, 1991), o que é maior que a concentração inicial no soro diluído usado de 1% (m/v), no entanto é exigido um % de tratamento de no mínimo 80% pelo sistema, o que não foi alcançado.

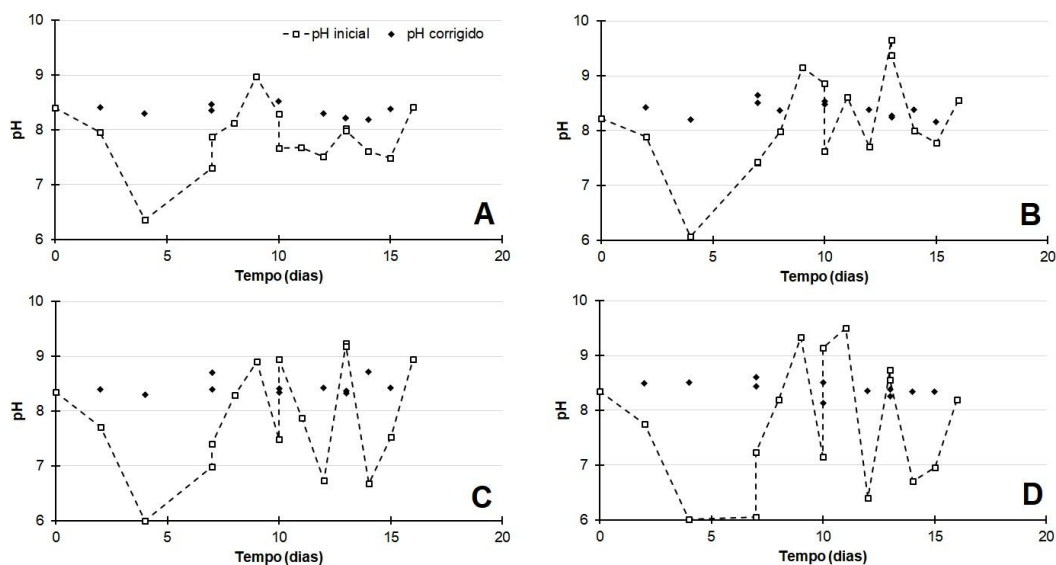
Li et al. (2011), cultivaram *Chlorella sp.* em efluente urbano altamente concentrado, rico em fósforo, com concentração inicial de 215,1 mg L⁻¹, experimentaram um sistema com reposição diária de 50% do volume contido no reator, com intensidade luminosa de 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ obtendo nos primeiros 4 dias de cultivo uma concentração de fósforo de 45,1 mg.L⁻¹ e após os 14 dias, evidenciaram uma remoção de 80,9%.

Ruiz-Marin, Mendoza-Espinosa e Stephenson (2010), sob condições citadas anteriormente, obteve 85% de remoção de fósforo total. O mesmo ainda sugeriu um método proposto para melhorar a remoção do fósforo em bioreatores é a utilização de culturas em *starvation*, que podem acumular mais fosfato do que o nível obtido. Apresentaram uma elevada afinidade e boa absorção de fósforo durante quatro ciclos, considerando que a remoção de P das águas residuais depende da sua biodisponibilidade. Amini et al. (2020), usaram *Chlorella vulgaris* e lodo ativado para tratar águas residuais municipais por foto-bioreatores em processo semicontínuo. Em 21 dias, a melhor taxa de remoção de fósforo foi de 84% e a pior de 60%, sob a taxa de reposição volumétrica de 15%, com um tempo de retenção hidráulica fixa (HRT) de 7 dias, operado em temperatura ambiente (cerca de 25 °C) e iluminados por lâmpadas fluorescentes (com uma densidade de luz de 2000 lx) sob um fotoperíodo de 12:12-h luz/escuro.)

5.5 pH

Pela **Figura 13**, percebe-se que houve a necessidade de controle do pH durante o processo de tratamento. Isso é importante, uma vez que o sistema é aberto, evitando assim uma possível contaminação, propiciando um meio em que as microalgas se beneficiam, com valores de pH entre 7,5-10 (MORONE et al., 2019). No entanto, se a queda brusca no pH não for controlada, isso pode colapsar a viabilidade celular no reator, uma vez que a formação de ácidos pode não ser acompanhada com a mesma velocidade de sua metabolização.

Figura 13. pH durante o tratamento de soro do leite 1% (v/v) em função da taxa de reposição volumétrica.



Fonte: Autora, 2022.

Também foi verificado que no processo semicontínuo entre 20-60% o pH tende a se elevar, e isso provavelmente é um resultado da estabilização da concentração de microalgas frente a de outros microrganismos e formação de ácidos, pois para 80% de reposição volumétrica, percebeu-se que a concentração de microalgas era bem menor entre os reatores, mesmo havendo produção de biomassa microbiana (bactérias e fungos), provavelmente pela maior flutuação do pH para valores ácidos o que prejudica o crescimento microalgal.

As microalgas geralmente aumentam o pH do efluente durante o tratamento. O aumento de pH significa um efeito da fotossíntese microbiana. Li et al. (2020), também afirmou que a estabilização do pH ocorre em razão do consumo parcial dos ácidos orgânicos, pelos fungos, bactérias e microalgas e o restante desses ácidos previnem a alcalinização do meio que é promovida pelo crescimento da biomassa microalgal, solucionando o problema proporcionado pela flutuação do pH.

6. CONCLUSÕES

Diante do exposto, é possível concluir que a utilização de microalgas para a remoção de nutrientes do soro do leite mostrou-se eficiente. Certificou-se também que para o desenvolvimento saudável da cultura, diversos parâmetros devem ser avaliados.

Conseguiu-se operar com estabilidade em sistema semicontínuo com tempo de reposição volumétricos de 3 dias e sem necessidade de adição de inóculo por três ciclos utilizando-se taxas de reposição volumétrica entre 20-80% v/v. Quanto ao pH, observou-se que para taxas de reposição volumétrica até 60%, houve estabilização da concentração de microalgas.

Apesar de haver remoção de DQO, nitrogênio e fósforo, percebeu-se que para DQO e nitrogênio total é necessário ainda remover quantidade adicional de forma a preconizar a legislação europeia (tomada como parâmetro uma vez que a brasileira ainda não possui tal especificação) para descarte em corpos hídricos e ajustes podem tentar ser realizados como inserção de aeração forçada ou simbiose com algum outro microrganismo a ser adicionado.

Por fim, como complemento para as problemáticas e limitações observadas neste estudo, sugere-se também para trabalhos futuros o desenvolvimento de pesquisas para ampliação de escala do sistema semicontínuo apresentado, para a otimização de outros micro e macronutrientes essenciais ao desenvolvimento microalgal e para a relação entre área superficial e volume do reator na remoção de contaminantes, como para concentração do soro do leite.

Ainda assim, para corroborar os resultados obtidos, é extremamente necessário que outras cargas orgânicas (concentração de soro) sejam utilizadas de forma a delinear o comportamento de remoção dos contaminantes também em função delas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M. P.; MOREIRA, R. O.; MARTINS, M. C. F. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014.
- AMINI, E., BABAEI, A., MEHRNIA, M.R., SHAYEGAN, J., SAFDARI, M.S., Municipal wastewater treatment by semi-continuous and membrane algal-bacterial photo-bioreactors. **J. Water Process Eng**, p. 36, 2020.
- ANGELO, E. A.; ANDRADE, D. S.; FILHO, A. C.; Cultivo não-fotoautotrófico de microalgas: uma visão geral Non-photoautotrophiccultivationofmicroalgae: an overview. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 125-136, 2014.
- APHA, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 23^a ed. American Public Health Association. American Water Works Association, Water Environment Federation, Denver., 2017.
- BECKER, E. W. Microalgae: Biotechnology and Microbiology. **Cambridge: Cambridge University Press**, p. 293, 1994.
- BEHERA, B.; ACHARYA, A.; GARGEY, I. A.; ALY, N.; BALASUBRAMANIAN, P. Bioprocess engineering principles of microalgal cultivation for sustainable biofuel production. **Bioresource Technology Reports**, v. 5, p. 297-316, 2019.
- BENTAHAR, J.; DOYEN, A.; BEAULIEU, L.; DESCHÊNES, J. Acid whey permeate: An alternative growth medium for microalgae *Tetradismus Obliquus* and production of β -galactosidase. **Algal Research**, v. 41, 2019.
- BITOG, J. P.; LEE, I. B.; YOO, J. I. HWANG, S. B.; SEO, I. H. Development of a large-sizes photobioreactor for microalgae production. CIGR International Symposium of the Australian Society for Engineering in Adriculture, Brisbane, Queensland, Australia, September, 2009.
- BONETT, J. E. A.; GERALDINO, P. S.; CARDOSO, P. G.; COELHO, F. F.; DUARTE, W. F. Isolation of freshwater microalgae and outdoor cultivation using cheese whey as substrate. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, p. 101799, october. 2020.
- BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. **J Biotechnol**, v. 70, p. 313-321, 1999.

BORZANI, W.; SHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E. *Biotecnologia Industrial*. V. 2. São Paulo – SP. **Editora Edgard Blucher Ltda.**, 541 pp ISBN 04531-012, 2001.

CABANELAS, I. T. D.; RUIZ, J.; ARBIB, Z.; CHINALIA, F. A.; GARRIDO-PÉREZ, C.; ROGALLA, F.; NASCIMENTO, I. A.; PERDES, J. A. Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal product ion and nutrient removal. **Bioresource Technology**, v. 131, p. 429-436, 2013.

CAMEJO, J. G.; VIRUELA, A.; RUANO, M. V.; BARAT, R.; SECO, A.; FERRER, J. Effect of light intensity, light duration and photoperiods in the performance of an outdoor photobioreactor for urban wastewater treatment. **Algal Research**, v. 40, 2019.

CARRERES, B. M.; JAEGER, L.; SPRINGER, J.; BARBOSA, M. J.; BREUER, G.; END, E. J.; KLEINEGRIS, D. M. M.; SCHFFERS, I.; WOLBERT, E. J. H.; ZHANG, H.; LAMERS, P. P.; DRAAISMA, R. B.; MARTINS DOS SANTOS, V. A. P.; WIJFFELS, R. H.; EGGINK, G.; SCHAAP, P. J.; MARTENS, D. E. Draft Genome Sequence of the Oleaginous Green Alga *Tetrademus obliquus* UTEX 393. **Genome Announcements**, v. 5, 2017.

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

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, **Anais eletrônicos**, v. 4, São Paulo: UNESP, 2012.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 294- 306, 2007.

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

CUELLAR-BERMUDEZ, S.P.; NAVA, G.S.A.; CHANDRA, R.; GARCIA-PEREZ, J.S.; CONTRERAS-ÂNGULO, J.R.; MARKOU, G.; MUYLEAERT, K.; RITTMANN, B.E.; SALDIVAR, R.P. Nutrients utilization and contaminants removal. A review of

two approaches of algae and cyanobacteria in wastewater. **Algal Research**, v. 24, Parte B, p. 438-449, 2017.

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

FERREIRA, A.; MARQUESA, P.; RIBEIRO, B.; ASSEMAN, P.; MENDONÇA, H. V.; BARATA, A.; OLIVEIRA, A. C.; REIS, A.; PINHEIRO, H. M.; GUEVIA, L. Combining biotechnology with circular bioeconomy: From poultry, swine, cattle, brewery, dairy and urban wastewaters to biohydrogen. **Environmental Research**, v. 164, p. 32-38, 2018.

FLYNN, K.J., STOECKER, D.K., MITRA, A., RAVEN, J.A., GLIBERT, P.M., HANSEN, P.J. Misuse of the phytoplankton-zooplankton dichotomy: the need to assign organisms as mixotrophs within plankton functional types. J. Plankton **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 101, 2012.

FONTOURA, J. T.; ROLIM, G.S.; FARENZENA, M.; GUTTERRES, M. Influence of light intensity and tannery wastewater concentration on biomass production and nutrient removal by microalgae *Scenedesmus* sp. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 111, 355-362, 2017.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. Dairy Chemistry and Biochemistry. Published by Blackie Academic & Professional, an imprint of Thomson Science, 2-6 Boundary Row, London SE1 8UK, 478p, 1998.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. Fundamentals of cheese science. **Aspen Publishers**, Inc. Gaithersburg, Maryland, p. 544, 2000.

GIRALDO-ZUÑIGA, A. D. Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 59, n. 340, p. 53-66, 2004.

GUIMARÃES, P. M. R., TEIXEIRA, J. A.; DOMINGUES, L. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 3, p. 375- 384, 2010.

GAO, K.; ORR, V.; REHMANN, L. Butanol fermentation from microalgae-derived carbohydrates after ionic liquid extraction, **Bioresource Technology**, v. 206, p. 77-85, 2016.

- HARTMANN, M., GROB, C., TARRAN, G.A., MARTIN, A.P., BURKILL, P.H., SCANLAN, D.J. Mixotrophic basis of Atlantic oligotrophic ecosystems. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, 109, 5756–5760, 2012.
- HENRARD, A. S. A. Cultivo semicontínuo das microalgas. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2009.
- HO, S.; LI, P.; LIU, C.; CHANG, J. Bioprocess development on microalgae-based CO₂ fixation and bioethanol production using *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 142–149, out. 2013.
- IAL – Instituto Adolf Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4^a ed. São Paulo, 2005.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Tabela 6 – Produção de leite no período de 01.01 a 31.12, segundo as Grandes Regiões e Unidades da Federação – 2010b. Rio de Janeiro, 2010b. Disponível em: https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2013/tabelas_pdf/tab06.pdf. Acesso em: 10 dez. 2021.
- JI, M.; ABOU-SHANAB, R. A. I.; KIM, S.; SALAMA, E.; KABRA, A. N.; LEE, Y.; HONG, S.; JEON, B. Cultivation of microalgae species in tertiary municipal wastewater supplemented with CO₂ for nutrient removal and biomass production. **Ecological Engineering**, v. 58, p. 142-148, jul. 2013.
- JIMÉNEZ, C., COSSIO, B., LABELLA, D., NIELL, F. X. The feasibility of industrial production of *Spirulina* (*Arthrospira*) in Southern Spain. *Aquaculture* 217, p. 179–190, 2003.
- JORQUERA, O.; KIPERSTOK, A.; SALES, E. A.; EMBIRUCU, M.; GHIRARDI, M. L. Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 1406-1413, 2010.
- KHOO, C. G.; LAM, M. K.; LEE, K. T. Pilot-scale semi-continuous cultivation of microalgae *Chlorella vulgaris* in bubble column photobioreactor (BC-PBR): hydrodynamics and gas liquid mass transfer study. **Algal Research**, v. 15, p. 65-76, abr. 2016.
- KIM, G.; YUN, Y.; SHIN, H.; KIM, H., HAN, J. *Scenedesmus*-based treatment of nitrogen and phosphorus from effluent of anaerobic digester and bio-oil production. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 235-240, 2015.

- KIM, S.; PARK, J.; CHO, Y.; HWANG, S. Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *Chlorella sorokiniana* in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 8-13, 2013.
- KLINTHONG, W.; YANG, Y.H.; HUANG, C.H.; TAN, C.S. A Review: Microalgae and Their Applications in CO₂ Capture and Renewable Energy. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 15, p. 712–742, 2015.
- KOSIKOWSKI, F. Cheese and fermented milk foods. Second Edition 3rd Printing-with revisions. P.O. Box 139, Brooktondale, 1982. 711p.
- LEE, S.; LEE, N.; OH, H.; AHN, C.; Enhanced and Balanced Microalgal Wastewater Treatment (COD, N, and P) by Interval Inoculation of Activated Sludge. **J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 29(9), p. 1434–1443, 2019.
- LEE, C.; HAMM, S.; CHEONG, J.; KIM, K.; YOON, H.; KIM, M.; KIM, J. Contribution of nitrate-nitrogen concentration in groundwater to stream water in an agricultural head watershed. **Environmental Research**, v. 184, p. 109313, 2020.
- LEIFELD, V.; MARQUES, M.B. Avaliações ambientais em diferentes tipos de soro de leite. In Congresso Brasileiro de Química, 53, Rio de Janeiro. Química: ampliando fronteiras. Rio de Janeiro: UEPG, 2013.
- LEITE, M.T.; BARROZO, M.A.D.S.; RIBEIRO, E.J. Canonical analysis technique as an approach to determine optimal conditions for lactic acid production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2012, p. 1-9, 2012.
- LENG, L.; LI, W.; CHEN, J.; LENG, S.; CHEN, J.; PENG, J.L.; ZHOU, W.; HUANG, H. Co-culture of fungi-microalgae consortium for wastewater treatment: A review. **Bioresource Technology**, v. 330, 2021.
- LI, K.; LIU, Q.; FANG, F.; LUO, R.; ZHOU, W.; HUO, S.; CHENG, P.; LIU, J.; ADDY, M.; CHEN, P.; CHEN, D.; RUAN, R. Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. **Bioresource Technology**, v. 291, 2019.
- LI, Y.; XU, Y.; LIU, L.; LI, P.; YAN, Y.; CHEN, T.; ZHENG, T.; WANG, H. Flocculation mechanism of *Aspergillus niger* on harvesting of *Chlorella vulgaris* biomass. **Algal Research**, v. 25, p. 402–412, 2017.

LI, Y.; CHEN, P.; CHEN, Y.; MIN, M.; ZHOU, W.; MARTINEZ, B.; ZHU, J.; RUAN, R. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 5138-5144, 2011.

LIZZUL, A. M.; HELLIER, P.; PURTON, S.; BAGANZ, F.; LADOMMATOS, N.; CAMPOS, L. Combined remediation and lipid production using *Chlorella sorokiniana* grown on wastewater and exhaust gases. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 151, p. 12-18, 2014.

LOURENÇO, S. O. Cultivo de Microalgas Marinhas – Princípios e Aplicações – São Carlos: RIMA, 2006.

MACHADO, R.M.G.; FREIRE, V.H.; SILVA, P.C.; FIGUERÊDO, D.V.; FERREIRA, P.E. Controle ambiental nas pequenas e médias industriais de laticínios. **Projeto Minas Ambiente**, Belo Horizonte, p. 224, 2012.

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

MARKOU, G.; GEORGAKAKIS, D. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: a review. **Applied Energy**, Västerås, v. 88, n. 7, p. 3401-3389, 2011.

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

METCALF & EDDY. Wastewater Engeneering: Treatment nand Reuse. 4th. Ed., Mc Graw-Hill, New York, 1819p, 2003.

MORAIS, K. C. C. Análise e desenvolvimento de aquicultura da microalga *Phaeodactylum tricornutum* em crescimento autotrófico e mixotrófico em fotobiorreatores compactos. 98 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

MORIN, P. et al. Microfiltration of Buttermilk and Washed Cream Buttermilk for Concentration of Milk Fat Globule Membrane Components. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 5, p. 2132-2140, 2007.

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

OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C.E.C.; TONIAL, I. B. Soro de leite: um subproduto valioso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v 67, n. 385, p. 64-71, 2012.

POFFENBARGER, H.; COYNE, M. S.; FRYE, W. W. Nitrogen in Soils/Cycle. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences [s.l.] Elsevier Inc., 2013.

PULZ, O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms, **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 57, p. 287-293, 2011.

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, 1973.

ROHLFES, A.L.B.; BACCAR, N.M.; OLIVEIRA, M.S.R.; MARQUARDT, L.E.; RICHARDS, N.S.P.S. Indústrias lácteas: alternativas de aproveitamento do soro de leite como forma de gestão ambiental. **Tecno-Lógica**, Santa Cruz do Sul, v. 15, n. 2, p. 79-83, 2011.

RUIZ-MARIN, A.; MENDOZA-ESPINOSA, L. G.; STEPHENSON, T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 101, n. 1, p. 58-64, jan. 2010.

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

SALAMA, E.; KURADE, M. B.; ABOU-SHANAB, R. A. I.; EL-DALATONY, M. M.; YANG I.; MIN, B., JEON, B. Recent progress in microalgal biomass production coupled with wastewater treatment for biofuel generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 1189–1211, 2017.

SAMORÌ, G.; SAMORÌ, C.; PISTOCCHI, R. Nutrient Removal Efficiency and Physiological Responses of *Desmodesmus communis* at Different HRTs and Nutrient Stress Condition Using Different Sources of Urban Wastewater Effluents. **Appl Biochem Biotechnol**, [s.l.], v. 173, p. 74-89, mar. 2014.

SANTOS, F. A.; QUEIROZ, J.H.; COLODETTE, J. L.; MANFREDI, M.; QUEIROZ, E. L. R.; CALDAS, C. S.; SOARES, F. E. F.; Otimização do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar visando à produção de etanol celulósico. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 56-62, 2014.

SILVA, C.E.F.; BERTUCCO, A. Bioethanol from microalgae and cyanobacteria: A review and technological outlook. **Process Biochemistry**, v. 51, p. 1833-1842, 2016.

SILVA, C.E.F.; SFORZA, E.; BERTUCCO, A. Continuous cultivation of microalgae as an efficient method to improve carbohydrate and biochemical stability. 25th **European Biomass Conference and Exhibition**, Stockholm, Sweden, p. 319-324, 2017.

SILVA C. E. F.; OLIVEIRA, R.B.; CARVALHO, C. M.; CARVALHO, F. O.; TONHOLO, J. Microalgae and Wastewaters: From Ecotoxicological Interactions to Produce a Carbohydrate-Rich Biomass Towards Biofuel Application. **Application of Microalgae in Wastewater Treatment**, v. 2, Cap. 21, p. 495-529, 2019.

SPERLING, M. V. Introdução a qualidade das águas e ao tratamento de Esgotos, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Belo Horizonte, 2002.

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

TREVISAN, E.; NETO, M.L.; MORO, P.; HOSHINO, S.O.; ARROYO, P.A. Avaliação do pH em cultivo de microalga *Chlorella vulgaris*. In: 8º Encontro

internacional de produção científica cesumar. **Anais eletrônicos**. Paraná: UNICESUMAR, 2013.

VAZIRZADEH, A.; JAFARIFARD, K.; AJDARI, A.; CHISTI, Y. Removal of nitrate and phosphate from simulated agricultural runoff water by *Chlorella vulgaris*. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 802, p. 149988, ago. 2021.

VIEIRA, J.G.; JACOB-LOPES, E.; SILVA-MANETTI, A.G.; QUEIROZ, M.I. Influência da temperatura na remoção de fosfato por microalgas em biorreatores heterotróficos. **Revista Ambiente & Água**, Taubaté, v.7, n.2, p.101-109, 2012.

VIEGAS, C.; GOUVEIA, L.; GONÇALVES, M. Evaluation of microalgae as bioremediation agent for poultry effluent and biostimulant for germination. **Environmental Technology & Innovation**, [s.l.], v. p., 2021.

VOLTOLINA, D.; CORDERO, B.; NIEVES, M.; SOTO, L. P. Growth of *Scenedesmus* sp. In artificial wastewater. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 68, p. 265-268, jun. 1999.

YU, J.; ELE, H.; YANG, W. L.; YANG, C.; ZENG, G.; WU, X. Magnetic bionanoparticles of *Penicillium* sp. yz11-22N2 doped with Fe₃O₄ and encapsulated within PVA-SA gel beads for atrazine removal. **Bioresource Technology**, v. 260, p. 196-203, 2018.