

LUCIANA CARLA PERUSSOLO

**VALORAÇÃO AMBIENTAL DE EFLUENTES DE LATICÍNIOS  
COM CULTIVO DA MICROALGA *Phormidium* sp.**

Passo Fundo

2022

LUCIANA CARLA PERUSSOLO

**VALORAÇÃO AMBIENTAL DE EFLUENTES DE LATICÍNIOS  
COM CULTIVO DA MICROALGA *Phormidium* sp.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao curso de Engenharia Ambiental e Sanitária  
da Universidade de Passo Fundo.

Orientador: Profa. Dra. Luciane Maria Colla

Passo Fundo

2022

LUCIANA CARLA PERUSSOLO

**VALORAÇÃO AMBIENTAL DE EFLENTES DE LATICÍNIOS  
COM CULTIVO DA MICROALGA *Phormidium* sp.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Ambiental da Universidade de Passo Fundo, como requisito para obtenção do título de Engenheira Ambiental e Sanitarista.

Orientador: Profa. Dra. Luciane Maria Colla

BANCA EXAMINADORA



---

Orientador: Profa. Dra. Luciane Maria Colla

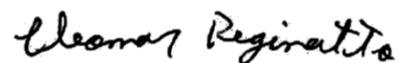
Universidade de Passo Fundo



---

Dr. Alan Rempel

Universidade de Passo Fundo



---

Prof. Dr. Cleomar Reginatto

Universidade de Passo Fundo

Passo Fundo

2022

PERUSSOLO, Luciana Carla. **Valoração Ambiental de Efluentes de Laticínios com cultivo da microalga *Phormidium* Sp.**. 2022. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental e Sanitária) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo. 2022.

## RESUMO

Devido a alta demanda energética e de fertilizantes, surge a necessidade de novas tecnologias para a substituição de fontes finitas por fontes alternativas de produção destes compostos. Em vista disto, as biomassas microalgais surgem como matéria prima para a produção de biocombustíveis e biofertilizantes, e dentre elas, a microalga *Phormidium* sp. tem esta capacidade de se multiplicar em meio com adição de efluentes. Assim, a utilização de meios alternativos, como soro de leite, para o cultivo de microalgas diminui os custos de sua produção e disponibiliza uma fonte de nutrientes orgânicas para seu crescimento, além de remover os agentes contaminantes deste subproduto proveniente da fabricação de queijos. O objetivo geral do estudo foi buscar a valoração de efluentes agroindustriais através do cultivo da microalga *Phormidium* sp. em meio de cultivo com adição de soro de leite. Também foram quantificadas as concentrações de consumo de açúcar redutor ao longo do tempo, além de avaliar as características finais do sobrenadante de DQO, N e P. Após o período de cultivo foi realizada uma caracterização da biomassa produzida quanto aos teores de proteínas e carboidratos. Para avaliar a capacidade da microalga *Phormidium* sp. ser cultivada em meio de cultivo com adição de soro de leite, foram realizados ensaios com a adição do resíduo em concentração de 1% (v/v) relacionados com o volume do útil do reator. Foram variados os intervalos de tempos entre as adições, de 3, 5 e 7 dias, e o tempo de cultivo foi de 30 dias. Ao final do experimento concluiu-se que a microalga sobreviveu a adição de soro, se tornando uma alternativa de valoração do efluente que antes era descartado, pois através das leituras de concentração pode-se perceber um crescimento microalgal maior nas adições de soro de leite. Nas leituras de concentração de açúcar redutor houve uma utilização da lactose por parte da microalga, e nas leituras de DQO, N e P também mostraram que a microalga *Phormidium* sp. tratou o efluente, pois a concentração acumulada inicial é maior que a final. Também, sua biomassa apresentou potencial alternativa para a produção de biofertilizantes fazendo com que as indústrias de laticínios utilizem suas águas residuárias na produção de biofertilizantes, gerando renda e diminuindo os gastos com disposição final de lodo gerado no tratamento das mesmas.

**Palavras-chaves:** *Phormidium*; Soro de leite; Biofertilizante.

PERUSSOLO, Luciana Carla. **Environmental Valuation of Dairy Effluents with the cultivation of the microalgae Phormidium Sp.**. 2022. 45 f. Completion of Course Work. Environmental and Sanitary Engineering – University of Passo Fundo, Passo Fundo, 2022.

### **ABSTRACT**

Due to the high demand for energy and fertilizers, there is a need for new technologies to replace finite sources with alternative sources for the production of these compounds. In view of this, microalgae biomasses appear as raw material for the production of biofuels and biofertilizers, and among them, the microalgae *Phormidium* sp. has this ability to multiply in a medium with the addition of effluents. Thus, the use of alternative media, such as whey, for the cultivation of microalgae reduces the costs of its production and provides a source of organic nutrients for its growth, in addition to removing the contaminating agents of this by product from the manufacture of cheese. The general objective of the study was to seek the valuation of agro-industrial effluents through the cultivation of the microalgae *Phormidium* sp. in a culture medium with the addition of whey. The concentrations of reducing sugar consumption over time were also quantified, in addition to evaluating the final characteristics of the COD, N and P supernatant. After the cultivation period, a characterization of the produced biomass was carried out in terms of protein and carbohydrate contents. To evaluate the ability of the microalgae *Phormidium* sp. be cultivated in a culture medium with the addition of whey, tests were carried out with the addition of the residue in a concentration of 1% (v/v) related to the volume of the useful part of the reactor. The time intervals between the additions were varied, from 3, 5 and 7 days, and the cultivation time was 30 days. At the end of the experiment, it was concluded that the microalgae survived the addition of whey, becoming an alternative for valuing the effluent that was previously discarded, because through the concentration readings, a greater microalgal growth can be seen in the additions of whey. In the readings of reducing sugar concentration there was a use of lactose by the microalgae, and in the readings of DQO, N and P also showed that the microalgae *Phormidium* sp. treated the effluent, as the initial accumulated concentration is greater than the final one. Also, its biomass presented a potential alternative for the production of biofertilizers, causing the dairy industries to use their wastewater in the production of biofertilizers, generating income and reducing expenses with the final disposal of the sludge generated in their treatment.

**Key-words:** *Phormidium*, Whey, Bioterfizer.

## ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Imagem da microalga <i>Phormidium</i> sp. ....	16
Figura 3: Cultivo da microalga <i>Phormidium</i> sp. ....	24
Figura 4: Curva de calibração da microalga <i>Phormidium</i> sp. ....	28
Figura 5: Curva de calibração do Açúcar Redutor. ....	30
Figura 6: Concentração de biomassa versus tempo para os cultivos adicionados de soro de leite a cada 3, 5 e 7 dias e para o ensaio controle. ....	33
Figura 7: Resultado após 30 dias de experimento. ....	34
Figura 8: Adição de soro de leite a cada 3 dias. ....	35
Figura 9: Adição de soro de leite a cada 5 dias. ....	35
Figura 10: Adição de soro de leite a cada 7 dias. ....	35

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Principais componentes do leite bovino.....	18
Tabela 2: Parâmetros físico-químicos retirados da literatura, de efluentes de laticínios e seus valores.....	20
Tabela 3: Padrão de emissão em relação a vazão no estado do Rio Grande do Sul.....	22
Tabela 4: Composição do meio BGN.....	26
Tabela 5: Preparo da solução traço de metais.....	26
Tabela 6: Delineamento experimental para avaliação do efeito do intervalo de adição do soro de leite em cultivos de <i>Phormidium</i> sp.....	27
Tabela 7: Velocidade máxima de crescimento e concentração máxima da microalga <i>Phormidium</i> sp.....	34
Tabela 8: Caracterização do soro de leite e sobrenadante após 30 dias de cultivo microalgal.....	36
Tabela 9: Resultados esperados e obtidos de DQO, P e N.....	37
Tabela 10: Resultados obtidos e carboidratos e proteínas.....	38

## ÍNDICE

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
1.1 OBJETIVO GERAL .....	12
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>13</b>
2.1 MICROALGAS .....	13
2.2 <i>Phormidium</i> sp. ....	14
2.3 TIPOS DE CULTIVO .....	16
2.4 EFLUENTES DA INDÚSTRIA .....	17
2.5 A COMPOSIÇÃO DO LEITE E DO EFLUENTE DE LATICÍNIOS .....	18
2.7 VALORAÇÃO DE EFLUENTES AGROINDUSTRIAIS .....	22
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
3.1 EFLUENTE E MICROALGAS .....	24
3.2. FLUXOGRAMA DA FASE EXPERIMENTAL .....	25
<b>3.2.1 Meio de Cultivo e Preparo do Inóculo</b> .....	<b>26</b>
3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	27
3.4 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS .....	28
<b>3.4.1 Concentração microalgal</b> .....	<b>28</b>
<b>3.4.2 Quantificação de açúcar redutor</b> .....	<b>29</b>
3.5. ANÁLISES DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS .....	30
<b>3.5.1. Análise de DQO</b> .....	<b>30</b>
<b>3.5.2 Análise de nitrogênio</b> .....	<b>31</b>
<b>3.5.3 Análise de Fósforo</b> .....	<b>32</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>33</b>
4.1 CRESCIMENTO MICROALGAL .....	33
4.2 CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCAR REDUTOR .....	35
4.3 REMOÇÃO DE NUTRIENTES DO SORO DE LEITE POR MICROALGAS	36

4.4 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE CARBOIDRATOS E PROTEÍNAS .....	38
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>40</b>
<b>6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>41</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As algas são descritas como organismos fotossintetizantes e participam em diferentes nichos aquáticos de água doce ou água salgada e não se restringem a somente ambientes naturais podendo estar presentes em efluentes e meios de cultura. Este grupo divide-se em macroalgas e microalgas (RODRIGUES, 2022).

As microalgas apresentam inúmeras aplicações, entre elas, o potencial de remover nutrientes e carbono orgânico de efluentes, como os de laticínios. Assim, além de se realizar a valoração destas águas residuárias, os nutrientes presentes podem ser convertidos em nutrientes e matéria orgânica para as microalgas, cuja biomassa poderá ser posteriormente utilizada para outras finalidades (DELABARY, 2012 apud SINHOR, 2014). Salla (2016) cultivaram a microalga *Spirulina platensis* em modo descontínuo alimentado usando soro de leite, possibilitando o acúmulo de cerca de 58% de carboidratos na biomassa, quando foram cultivadas em fotobiorreatores fechados de 1 L. Já Szwarc (2019) obteve sucesso utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* com uma eficiência na remoção de compostos biogênicos de efluentes, com uma eficiência de remoção de nitrogênio de em torno de  $15,61 \text{ mg N dm}^{-3} \text{ dia}^{-1}$ .

Desta forma, resíduos ou subprodutos como o soro de leite, proveniente do processo de produção de queijos, pode ser uma fonte alternativa de nutrientes como o carbono orgânico, para o cultivo de microalgas, possibilitando a produção de uma biomassa que pode ter várias utilidades, como produção de biocombustíveis, fertilizantes ou mesmo como alimentos (QUEIROZ et al., 2007 apud SANTOS, 2018).

Pois o soro de leite é um subproduto de grande valor nutricional, produto da indústria de laticínios. Normalmente ele é produzido em grandes quantidades e seu descarte apresenta riscos ambientais, sendo que mais de 50 % dos nutrientes totais do leite estão presentes no soro de leite. As proteínas, gorduras e lactose são os principais contribuintes para o aumento da carga orgânica do soro de leite. Assim para ocorrer uma redução dos riscos ambientais associados ao descarte do soro de leite surgem novas alternativas de valorar o soro de leite ou efluentes de laticínios através do cultivo de microalgas (OZEL, 2022).

Então um exemplo de valoração seria o Brasil, que não possui reservas de compostos químicos para produção de fertilizantes e atualmente, as plantações agrícolas necessitam de fertilizantes químicos e seu uso resulta em acúmulo de compostos tóxicos e aumento da acidez dos solos, a má gestão química afeta a qualidade do solo e a saúde das plantas. Trazendo a

necessidade de fontes alternativas como os biofertilizantes que atraem grande atenção pois seu uso diminui a dependência por fertilizantes químicos (WEI, 2022).

Então como estudos com a *Phormidium* sp., utilizando soro de leite são mais escassos e essa microalga possui um grande potencial de adaptação surgiu a possibilidade de valorar o soro de leite que é um grande poluente para produzir biocombustível ou biofertilizante, foco principal do trabalho.

### 1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo é a valoração de efluentes agroindustriais através do cultivo da microalga *Phormidium* sp. em meio de cultivo com adição de soro de leite.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos foram:

- a) Caracterizar o soro de leite;
- b) Estudar a adição de soro de leite através de modo batelada alimentada ao meio de cultivo padrão da microalga;
- c) Avaliar os parâmetros de crescimento microalgal;
- d) Avaliar a remoção de DQO, P e N do sobrenadante;
- e) Caracterizar a biomassa bioquimicamente obtida.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 MICROALGAS

O primeiro uso das microalgas na alimentação humana data de 2000 anos quando os chineses usaram a microalga *Nostoc* para sobreviver à fome. Porém, a biotecnologia de microalgas começou a se desenvolver realmente no século passado (SPOLAORE, 2006).

Aproximadamente no início da década de 1950, com o aumento populacional e as previsões de uma oferta insuficiente de proteínas, levaram a busca por novas fontes alternativas e não convencionais de proteínas (SPOLAORE, 2006).

O sistema de produção baseado em microalgas, possui alguns parâmetros que podem afetar o seu crescimento como o pH, a radiação solar, o oxigênio dissolvido e a temperatura. Cultivos em temperaturas inadequadas podem reduzir a produtividade de biomassa e causar o colapso total da cultura (HERNÁNDEZ, 2022).

As algas também são consideradas as maiores removedoras de carbono da biosfera. Os oceanos sequestram anualmente 2 gigatoneladas de carbono através da absorção de dióxido de carbono, e a biosfera terrestre total, por meio, como por exemplo, das árvores, 1,4 gigatoneladas (SANTOS, 2015).

Eles representam o maior grupo de organismos procariontes fotossintéticos, devido a sua ampla ocorrência, frequência, abundância e diversidade morfológica. Podem sobreviver a condições de crescimento não favoráveis por longos períodos. Seu cultivo também não necessita de compostos ricos em energia como os microrganismos não fotossintéticos. Além disso, necessitam de nutrientes simples que resultam em potencial para criar tecnologias de baixo custo e ecologicamente corretas para o tratamento de águas residuais e a geração de bioprodutos (ARIAS, 2020).

A maioria das microalgas são seres autotróficos, mas, uma quantidade desses microrganismos, possuem a habilidade de manter sua estrutura na ausência de luz, então, são capazes de crescer heterotroficamente, a partir da assimilação de um ou mais substratos orgânicos como: fonte de carbono e energia para manter sua estrutura (SANTOS, 2015).

Esses microrganismos apresentam diferenças nas formas de metabolizar energia, destacando-se o fotoautotrófico, heterotrófico, mixotrófico e fotoheterotrófico (PERREIRA, 2017).

Nas microalgas que possuem o metabolismo fotoautotrófico, em que ocorre a fotossíntese, ocorre a absorção de luz e transformação da energia gerada em carbono celular e

compostos oxidáveis para realização das atividades metabólicas, de crescimento e produção de biomassa.

Nos cultivos fotoheterotróficos ocorre, além da absorção de luz, que absorve os compostos orgânicos do meio de cultivo, destacam-se os carboidratos, acetato, glicerol e outros ácidos orgânicos. Nos cultivos microalgais em que ocorre o metabolismo mixotrófico, o modelo para se obter luz quanto substrato são parecidos ao fotoautotrófico e fotoheterotrófico, mas apresentam uma produtividade de biomassa maior que os cultivos fotoheterotróficos (CHOJNACKA; MARQUEZROCHA, 2004; YANG et al. 2014 apud FERREIRA, 2017). Nos cultivos fotoheterotróficos os organismos utilizam compostos orgânicos como fonte de carbono e energia luminosa para o se desenvolverem (DANTAS, 2013). Então, o metabolismo mixotrófico une tanto o uso de CO<sub>2</sub> proveniente de fontes luminosas, quanto de substrato disponível de outro composto usado em sistema de luz e escuro (KLEIN, ; BONOMI, ; FILHO, , 2017 apud FERREIRA, 2017).

Os tratamentos de efluentes com a utilização de microalgas resultam em alta eficiência na recuperação de nutrientes além de permitir na redução de poluentes ambientais. A biomassa pode ser utilizada para produção de bioenergia, biofertilizante entre outros aproveitamentos (GOSWAMI, 2021).

As microalgas possuem um papel importante no uso como matéria-prima para produzir biodiesel. Mas o seu cultivo necessita de grande quantidade de nutrientes, levando a questionar sobre o impacto ambiental e econômico que esses sistemas podem trazer. Por esse motivo, o uso de efluentes, especialmente os derivados de agroindústrias que normalmente possuem uma alta concentração de nutrientes, podem reduzir no custo total da produção de biodiesel ou biofertilizante de microalgas (RIANO, 2016).

## 2.2 *Phormidium* sp.

Segundo Hoffmann et al. (2005) apud Ferreira, (2012), a espécie *Phormidium* sp. pertence à Classe Cyanophyceae, Subclasse Oscillatoriothycidae, Ordem Oscillatoriales e Família Phormidiaceae.

A microalga *Phormidium* sp. é considerada uma cianobactéria filamentosa não ramificada que vive em aglomerados e seu conteúdo é normalmente azul esverdeado. As cianobactérias têm essa denominação por causa da ausência de organização celular e estrutura definida, se assemelhando às bactérias. Apresenta-se como uma fonte promissora de novos bioprodutos (SANTOS 2015). Além de serem consideradas fontes ricas de metabólitos

estruturalmente novos e ativos com atividades antibacterianas, antivirais, antifúngicas e anticancerígenas. Cianobactérias estão presentes em diversos habitats, ambientes terrestres, marinhos, de água doce e salgada. Pode ocorrer como simbióticos, comensais ou parasitas com outros animais e plantas (PRASANNABALAJI, 2020).

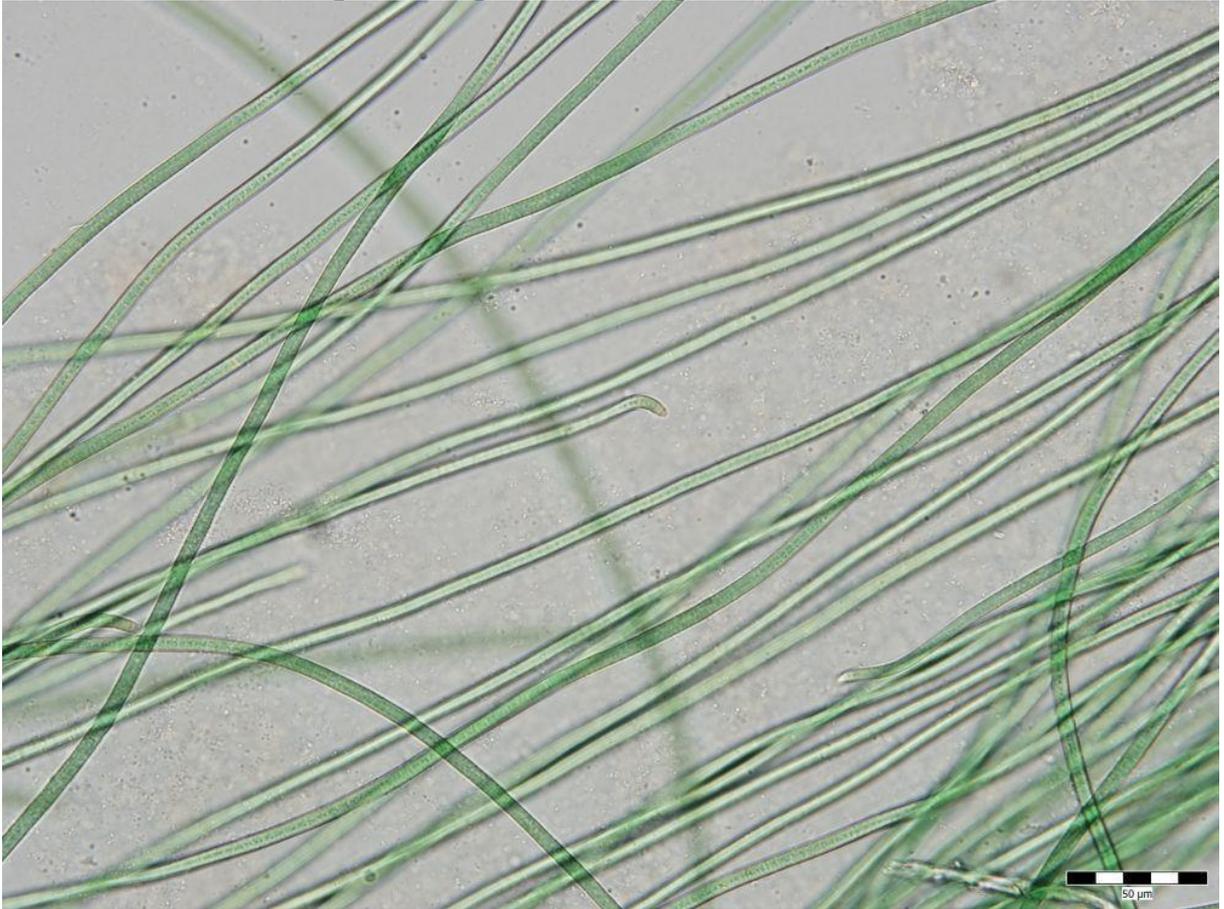
A microalga *Phormidium* sp. é uma cianobactéria termal, essas cianobactérias se originaram há cerca de 3,5 milhões de anos no mesmo ambiente das fontes termais sendo um grupo antigo de microrganismos fotossintéticos. As algas verdes azuis são conhecidas como os primeiros seres produtores de oxigênio da Terra, que se adaptaram com as mudanças na atmosfera, se aclimatando a diferentes climas e regiões como fontes termais, regiões polares, pântanos, fontes hidrotermais, lagoas salinas entre outros (SAINI, 2021).

Estudos realizados confirmam que uma quantidade de biomassa da *Phormidium* sp. pode ser gerada usando soro de queijo como substrato para o crescimento microalgal. Além disso, a matéria orgânica solúvel e a amônia contidos no efluente anaeróbio podem ser removidos até em 84-94%, já a eficiência de remoção de fósforo solúvel foi menor entre 20-71%. Taxas maiores de carga orgânica e nutrientes ajudam no crescimento da biomassa (RIANO, 2016).

Arias (2020) cita estudos que relatam que a microalga em estudo tem sido cultivada com sucesso sendo utilizada para remover DQO e DBO (>80%) em águas residuais municipais, e serve também para a remoção de N e P (>60%). A *Phormidium* sp. também podem oferecer uma solução para realizar o tratamento terciário em decorrência à sua capacidade de remover nutrientes (ARIAS, 2020).

A Figura 1 apresenta a imagem em microscópio da microalga utilizada no estudo, a *Phormidium* sp.

Figura 1: Imagem da microalga *Phormidium* sp.



Fonte: CCALA, 2022.

### 2.3 TIPOS DE CULTIVO

As formas de cultivo aplicados para produzir microalgas são variadas, são conforme a operação do cultivo. Os modos de operação de reator biológico são: o descontínuo, descontínuo alimentado, semi-contínuo e contínuo (SCHMIDELL; FACCIOTTI, 2004 apud SALLA, 2016).

De acordo com Lourenço (2006) apud Salla (2016) nos cultivos descontínuos as células são inoculadas no meio de cultivo e não é adicionado outro componente ao longo do desenvolvimento do cultivo. Possui uma vantagem, a fácil operação e manutenção, como fica em local fechado reduz as possibilidades de ocorrer mutações (SCHMIDELL, 2021).

Os cultivos semicontínuos proporcionam grande produção de células em um intervalo de tempo. Sua principal característica é a substituição do meio de cultivo com algas por um meio de cultivo novo, sem células (LOURENÇO, 2006 apud SALLA, 2016).

O processo descontínuo alimentado, é também chamado por batelada alimentada. É caracterizado por adições de nutrientes ao longo do cultivo para manter a concentração de substrato constante no biorreator, isso faz com que as células continuem com uma velocidade de crescimento constante (SCHMIDELL, 2021).

No processo contínuo é feita a alimentação contínua do substrato ao reator com uma vazão constante (BEZERRA, 2010). A entrada de meio de cultura e saída do caldo de cultivo possuem a mesma vazão. São normalmente iniciados no processo descontínuo e em determinado tempo faz-se a inserção do meio de cultura e a retirada do caldo (SCHMIDELL, 2021).

## 2.4 EFLUENTES DA INDÚSTRIA

O avanço populacional e o consumo desenfreado dos recursos naturais, levou a contribuir para uma deterioração acelerada das características físicas, químicas e biológicas dos recursos hídricos. Dessa forma, as bacias hidrográficas brasileiras estão em processo de degradação ambiental, podendo também comprometer a vida humana no futuro (ZANCANELA, 2021).

Além disso, há um conflito entre demanda crescente e oferta limitada de capacidade ambiental que intensificou a competição entre as fontes de poluição, ocasionando uma pressão prejudicial sobre a gestão da qualidade da água. Grandes quantidades de efluentes são despejadas nos corpos d'água, fazendo o risco exceder sua capacidade de lidar com tais cargas. O descarte de nutrientes forma dois tipos de risco, riscos econômicos e excesso de efluentes (ZHANG, 2022).

Devido ao alto teor de substâncias orgânicas, os efluentes de agroindústrias possuem alta quantidade de carbono e substâncias nitrogenadas (SUMANTRI, 2015). Os métodos físicos e químicos de tratamento são eficazes, mas caros, podendo causar poluição ambiental secundária além de danos a vida aquática e humana. As técnicas biológicas tradicionais são ecologicamente corretas e muito econômicas, mas necessitam de microrganismos autônomos que podem causar riscos de contaminação e acabam não sendo muito eficazes (SIROHI, 2022).

## 2.5 A COMPOSIÇÃO DO LEITE E DO EFLUENTE DE LATICÍNIOS

O leite é um produto resultante da ordenha completa, com condições de higiene, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 1997 apud HENARES, 2015). Além de ser um produto viscoso constitui-se de fase líquida e partículas em suspensão, formando uma emulsão natural que é estável em condições normais de temperatura ou refrigeração (SGARBERI, 2004 apud MESSIAS, 2015).

Na Tabela 1 apresentam-se os principais componentes do leite de bovino.

Tabela 1: Principais componentes do leite bovino.

<b>Componente</b>	<b>Percentual no leite</b>
Água	86,0 a 88,0
Sólidos Totais	12,0 a 14,0
Gordura	3,5 a 4,5
Proteína	3,2 a 3,5
Lactose	4,6 a 5,2
Minerais*	0,7 a 0,8

Fonte: NORO, (2001) apud SILVA, (2021).

\* A pequena porção de minerais são o potássio, cálcio e cloro adaptado (SEREIA, 2014 apud HENARES, 2015).

Devido ao seu alto valor nutritivo, o leite é um alimento de grande importância na alimentação humana. (SOUZA et al., 1995 apud HENARES 2015). O soro de leite representa uma parte aquosa do leite que permanece após a separação da coalhada, parte sólida resultante da coagulação do leite. Representa 85-95% do volume total do leite que retém cerca de 55% dos seus nutrientes, como a 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 componentes menos expressivos. A composição varia de acordo com a espécie (ovelha, cabra ou vaca) período de lactação, entre outros. As indústrias podem produzir duas variedades de soro: o soro ácido (de queijo cottage e fabricação de iogurte grego, pH < 5) e o soro doce, em estudo (de fabricação de queijo e iogurte, pH 6-7). O soro ácido geralmente possui uma maior quantidade de cinzas e menor quantidade de lactose e proteína que o soro doce (BENTAHAR, 2019).

Vários produtos são gerados na indústria de processamento de laticínios, como o leite pasteurizado, o leite e soro de leite em pó, queijo, manteiga, leite evaporado, sorvete e iogurte.

Esses efluentes podem ter elevados teores de DQO, variando de 1.000 a 70.000 mg L<sup>-1</sup>. As águas residuais obtidas durante as operações indústria de laticínios são divididas em três categorias: processamento, limpeza e efluente sanitário. A característica das águas residuais varia de acordo com os processos de lavagem e o ciclo de produção (SIROHI, 2022).

Geralmente esses efluentes são gerados nas operações de limpeza e lavagem, descarga e descartes, vazamentos e derramamentos (MACHADO et al., 2002 apud ANDRADE, 2011). As operações de limpeza e lavagem estão consistidas nos processos de enxágue e desinfecção de tanques diversos e tubulações, com a finalidade de remover resíduos de leite e outras impurezas, e na lavagem de pisos. Os efluentes das etapas de lavagem correspondem a 50 a 15 90% do volume total de efluentes que são gerados na indústria (DAUFIN, 2001 apud ANDRADE, 2011).

A Tabela 2 apresenta alguns parâmetros físico-químicos típico dos efluentes de laticínios, de acordo com Machado et al. (2002) apud Henares (2015).

Tabela 2: Parâmetros físico-químicos retirados da literatura, de efluentes de laticínios e seus valores.

Parâmetros	Faixa de Variação	
	(1)	(2)
Sólidos suspensos voláteis	24 - 5700	100 – 1000 mg L <sup>-1</sup>
Sólidos suspensos totais	135 – 8500 mg L <sup>-1</sup>	100 – 2000 mg L <sup>-1</sup>
DQO	500 – 4500 mg L <sup>-1</sup>	6000 mg L <sup>-1</sup>
DBO <sub>5</sub>	450 – 4790 mg L <sup>-1</sup>	4000 mg L <sup>-1</sup>
Proteína	210 – 560 mg L <sup>-1</sup>	ND
Gordura/Óleos e graxas	35 – 500 mg L <sup>-1</sup>	95 - 550 mg L <sup>-1</sup>
Carboidratos	252 - 931 mg L <sup>-1</sup>	ND
Amônia - N	10 – 100 mg L <sup>-1</sup>	ND
Nitrogênio	15 – 180 mg L <sup>-1</sup>	116 mg L <sup>-1</sup>
Fósforo	20 – 250 mg L <sup>-1</sup>	0,1 – 46 mg L <sup>-1</sup>
Sódio	60 – 807 mg L <sup>-1</sup>	ND
Cloretos	48 – 469 mg L <sup>-1</sup>	ND
Cálcio	57 – 112 mg L <sup>-1</sup>	ND
Magnésio	22 – 49 mg L <sup>-1</sup>	ND
Potássio	11 – 160 mg L <sup>-1</sup>	ND
pH	5,3 – 9,4	1 - 12
Temperatura	12 – 40°C	20 - 30°C

Fonte: adaptado de Machado (2002) apud Henares (2015).

Henares (2015) comenta que a partir de resultados tabelados pela indústria foi possível calcular uma estimativa de vazão média diária de efluente produzido no laticínio, sendo gerados 83 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> de efluente, no laticínio do estudo.

## 2.6 LEGISLAÇÃO

Com a crescente preocupação com o meio ambiente, pela parte dos consumidores, e a legislação ambiental ao longo do tempo se tornando mais rígida, levou as indústrias a mudar seus processos produtivos, buscando reduzir o consumo de matéria-prima e diminuir a produção de rejeitos (MILAN; VITORAZZI; REIS, 2010 apud SOUSA, 2019).

Assim o país foi induzido a criar legislações pertinentes ao assunto, como a Resolução CONAMA nº 430 de maio de 2011, que dispõe sobre as condições, parâmetros, padrões e

diretrizes para gestão do lançamento de efluentes em corpos receptores. Segundo o Art. 5º os efluentes não podem conferir ao corpo hídrico receptor características de qualidade inferior as metas obrigatórias estabelecidas.

O Art. 7º da Resolução CONAMA nº 430, estabelece que por meio de norma específica ou no licenciamento da atividade, que a carga poluidora máxima para o lançamento de substâncias formadas no processo produtivo, listadas ou não no Art. 16º, não devam comprometer as metas estabelecidas para o corpo hídrico receptor.

A seção II Art. 16, da Resolução CONAMA nº 430, apresenta as condições de lançamento de efluentes de qualquer fonte poluidora, que somente podem ser lançados ao corpo hídrico receptor, esse efluente deve possuir:

- a) pH entre 5 a 9;
- b) Temperatura: inferior a 40°C, a variação da temperatura do corpo receptor não pode exceder a 3°C;
- c) Materiais sedimentáveis: até 1mL/L em teste de 1 hora em cone *Inmhoff*. Para lançar o efluente em lagos e lagoas, que possuam a velocidade de circulação praticamente nula, os materiais sedimentáveis deverão estar virtualmente ausentes;
- d) Regime de lançamento com vazão máxima de até 1,5 vez a vazão média do período de atividade diária do agente poluidor, exceto nos casos permitidos;
- e) Óleos e graxas:
  1. Óleos minerais: até 20 mg/L;
  2. Óleos vegetais e gorduras animais: até 50 mg/L;
- f) Ausência de materiais flutuantes: e
- g) Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO 5 dias a 20°C): remoção mínima de 60% de DBO, sendo que o limite só poderá ser reduzido se o corpo hídrico receptor autodepurar facilmente, ou seja, deve-se comprovar o atendimento às metas de enquadramento do corpo receptor.

Como o Art 3º cita que os efluentes de qualquer fonte poluidora somente serão lançados diretamente aos corpos receptores após o tratamento desde que, obedeça às condições, padrões e exigências dispostos na Resolução CONAMA 430 e em outras normas aplicáveis e segundo a Constituição Federal, uma lei estadual só poderá ser mais restritiva que a lei federal.

No estado do Rio Grande do Sul há a Resolução CONSEMA 355/2017, que restringe o padrão de lançamento de efluentes em águas superficiais no estado. E estabelece no Art. 17 os padrões de emissão em função da vazão, somente para efluentes líquidos de fontes poluidoras, exceto efluentes sanitários, os parâmetros de DBO<sub>5</sub>, DQO, Sólidos Suspensos Totais (SST),

Fósforo Total, Nitrogênio Amoniacal e coliformes termo-tolerantes. Esses parâmetros devem atender aos valores de concentração estabelecidos, conforme Tabela 1.

Tabela 3: Padrão de emissão em relação a vazão no estado do Rio Grande do Sul.

Faixa de vazão do efluente (m <sup>3</sup> /d)	DBO <sub>5</sub> (mg/L)	DQO (mg/L)	SST (mg/L)	Fósforo Total		Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	Coliformes Termotolerantes	
				mg/L	Eficiência		NMP/100mL	Eficiência
(1) Q < 100	120	330	140	4	75%	20	10 <sup>5</sup>	95%
(2) 100 ≤ Q < 500	110	330	125	3	75%	20	10 <sup>4</sup>	95%
(3) 500 ≤ Q < 1000	80	300	100	3	75%	20	10 <sup>4</sup>	95%
(4) 1000 ≤ Q < 3000	70	260	80	2	75%	20	10 <sup>4</sup>	95%
(5) 3000 ≤ Q < 7000	60	200	70	2	75%	20	10 <sup>4</sup>	95%
(6) 7000 ≤ Q < 10000	50	180	60	2	75%	20	10 <sup>4</sup>	95%
(7) 10000 ≤ Q	40	150	50	1	75%	20	10 <sup>3</sup>	95%

Fonte: Adaptado de CONSEMA nº 355 (2017).

## 2.7 VALORAÇÃO DE EFLUENTES AGROINDUSTRIAIS

Os resíduos agroindustriais se referem aos elementos obtidos do setor agrícola e industriais, que são de produção de produtos agrícolas, como laticínios, carne, vegetais, etc. (YAASHIKAA, 2022). Eles servem para obter uma diminuição dos impactos ambientais que essas indústrias causam e garantir suprimento de alimentos de forma segura e sustentável. Converter esse fluxo de resíduos em proteínas unicelulares é uma alternativa para produzir biofertilizantes, biocombustíveis, em ração ou até mesmo como alimento (ASIRI, 2022).

A modernização das práticas do setor produção das indústrias agroalimentares e agroindustriais levaram a um aumento na produtividade aumentando a quantidade de resíduos produzidos. Nas últimas décadas, foi discutido sobre o potencial dos resíduos agroindustriais de alimentos servirem em biorrefinarias na extração de produtos como ácidos orgânicos, bioquímicos e biocombustíveis, pois os resíduos até hoje produzidos nas ETES dessas indústrias tem como disposição final os aterros (KUMAR, 2022).

De acordo com Almomani (2022), as microalgas foram introduzidas na década de 1970 como uma forma para produzir biocombustíveis. Devido ao alto teor de lipídios, que podem chegar a 75%, as microalgas também apresentam alta recuperação de biomassa e capacidade de produzir e acumular carbono pela fotossíntese. Sendo uma das formas mais promissoras para a redução de CO<sub>2</sub>, um dos responsáveis pelo aquecimento global. Esse biocombustível substitui parte do combustível fóssil podendo neutralizar a emissão de carbono. Então cultivar microalgas em águas residuárias é uma forma promissora para um aumento na sustentabilidade na produção de combustíveis microalgais (LI, 2022).

Em relação aos biofertilizantes, a biomassa pode ser um grande reservatório de nutrientes a ser recuperado. Ao serem cultivadas em águas residuárias essas microalgas permitem uma recuperação de N, P, em resumo, a obtenção de nutrientes e carbono orgânico da biomassa concentrada (CASTRO, 2020).

Os biofertilizantes são considerados uma forma de fertilizante ecologicamente correta, sustentável e econômica, pois além de aumentarem a produção agrícola, possuem um potencial menor de risco de poluição ambiental. Os mesmos podem possuir microrganismos benéficos como bactérias, fungos e algas que aumentam as propriedades químicas e biológicas do solo auxiliando no crescimento das plantas e restaurando a fertilidade do solo (SUCHITHRA, 2022). Pois contém microrganismos vivos que ao serem aplicados nas plantas ou solo, colonizam a rizosfera ou mesmo o as plantas e promovem o seu crescimento. O uso das microalgas para produção de biofertilizantes se intensificou nos últimos anos principalmente em países como os Estados Unidos e da União Européia (SILVA, 2019).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 EFLUENTE E MICROALGAS

O soro de leite utilizado estava disponível no Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos da Universidade de Passo Fundo, por ter sido usado em ensaios anteriores.

A microalga utilizada no estudo foi a *Phormidium* sp., pertencente ao banco de cepas do Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos da Universidade de Passo Fundo (UPF), conforme Figura 3.

Figura 2: Cultivo da microalga *Phormidium* sp.

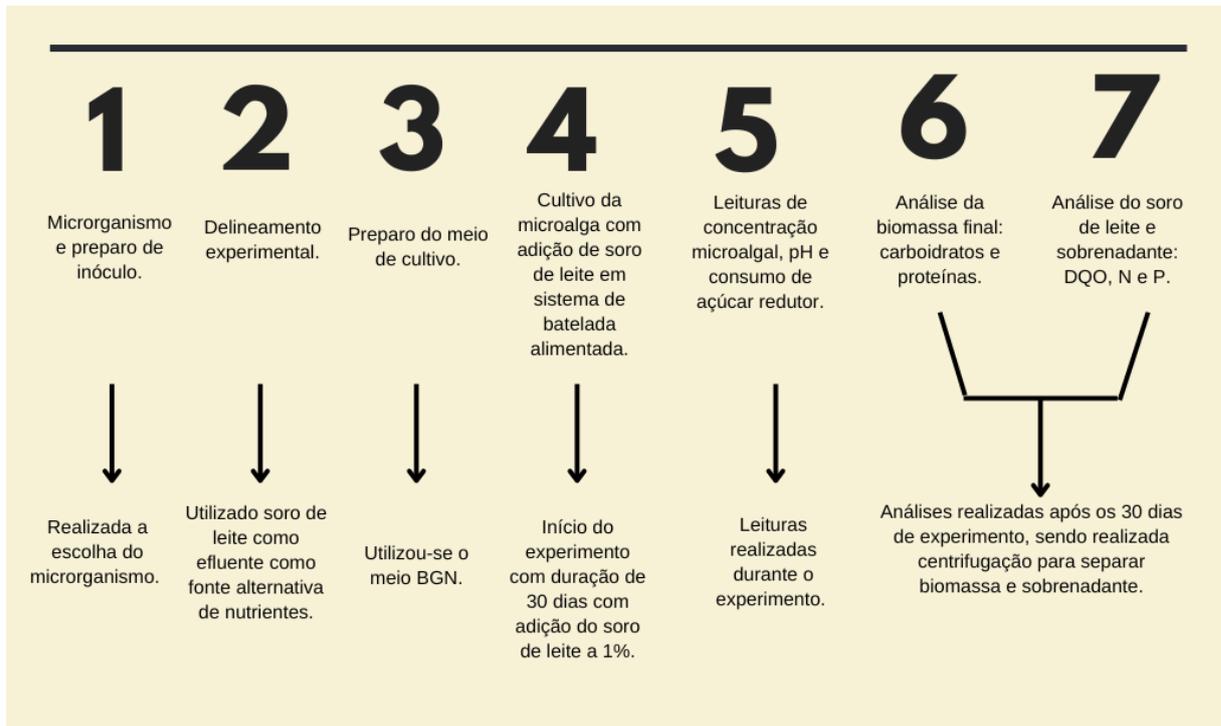


Fonte: A autora, 2022.

### 3.2. FLUXOGRAMA DA FASE EXPERIMENTAL

A Figura 3 mostra o fluxograma utilizado na elaboração da metodologia deste trabalho.

Figura 3: Fluxograma da fase experimental



Fonte: A autora, 2022.

### 3.2.1 Meio de Cultivo e Preparo do Inóculo

O meio de cultivo para cultivar a *Phormidium* sp. foi o meio BGN (Tabela 4).

Tabela 4: Composição do meio BGN.

Reagente	Preparo da Solução	Volume
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Fosfato de potássio)	3 g/100ml	1mL
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (Sulfato de Magnésio)	7,5 g/100ml	1mL
CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O (Cloreto de cálcio)	3,6 g/100mL	1mL
Citrato de amônio e ferro III	0,6 g/100mL	1mL
Na <sub>2</sub> EDTA	0,1 g/100mL	1mL
NaCl (Cloreto de sódio)	7,2 g/100mL	1mL
NaNO <sub>3</sub> (Nitrato de sódio)	15 g/ 100mL	10mL
C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> (Ácido cítrico)	0,06 g/100mL	1mL
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (Carbonato de sódio)	0,2g/100mL	1mL
Trace metals	-	1mL

Observação: o preparo da solução de metais traço foi realizado segundo a Tabela 5.

Tabela 5: Preparo da solução traço de metais.

Quantidade	Reagente
2,86 g/L	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> (Ácido Bórico)
1,81 g/L	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O (Cloreto de Manganês)
0,222 g/L	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (Sulfato de Zinco)
0,390 g/L	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O (Molibdato de sódio)
0,079g/L	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O (Sulfato de cobre II)
0,04 g/L	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O (Cloreto de cobalto II)

O inóculo da microalga *Phormidium* sp. foi cultivado em Erlenmeyers de 2 litros e foi previamente ambientado com adição de soro de leite (1% de soro de leite em relação ao volume útil do reator) a cada 5 dias. Os reatores foram mantidos em estufa incubadora, com temperatura constante de 24 a 30°C, e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro por meio de lâmpadas LED, com luminosidade de 900 lux. A aeração foi realizada por bombas compressoras (Boyu modelo

U-2800; Boyu modelo S-510) que promoveu a agitação. Todos os materiais e meios de cultivo foram previamente esterilizados em autoclave por 20 minutos a 121°C.

### 3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram realizados ensaios para observar a capacidade da microalga *Phormidium* sp. em se desenvolver mixotroficamente utilizando soro de leite como fonte de carbono. Os ensaios foram realizados com adição de uma concentração de 1% de soro de leite (v/v) em relação ao volume útil do biorreator. O soro de leite foi mantido congelado e fracionado, sendo descongelado somente antes da autoclavagem do material. Os ensaios iniciaram com uma concentração microalgal de 0,2 g L<sup>-1</sup>, com volume útil do reator de 1,8L e tiveram duração de 30 dias. A adição de soro de leite ocorreu em três intervalos diferentes, cada 3, 5 e 7 dias, sendo esta a principal variável deste estudo, o intervalo de adição de soro de leite aos cultivos algais. Além disso, foram adicionados testes controles (sem adição de soro de leite), que servem como parâmetro para verificar se a microalga *Phormidium* sp. está utilizando o soro de leite como fonte alternativa de nutrientes. Os experimentos foram realizados em estufa incubadora, conforme detalhado previamente. A caracterização do soro de leite foi realizada para avaliar a influência da adição do mesmo no meio de cultivo da microalga *Phormidium* sp. Os experimentos foram realizados em escala laboratorial em modo descontínuo. Todos os materiais e o soro de leite foram previamente esterilizados em autoclave (20 min, 121°C). O delineamento experimental está detalhado na Tabela 6 e todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Tabela 6: Delineamento experimental para avaliação do efeito do intervalo de adição do soro de leite em cultivos de *Phormidium* sp.

<b>Experimento</b>	<b>Adição de soro</b>	<b>Intervalo de tempo entre adições</b>
1	1%	3 dias
2	1%	5 dias
3	1%	7 dias
4	0%	0 dias

Fonte: A autora, 2022.

Como não há muitos estudos que exploram a adaptação da microalga *Phormidium* sp. em meio com adição de soro de leite, o experimento se manteve somente com adição de 1% em relação ao volume do biorreator.

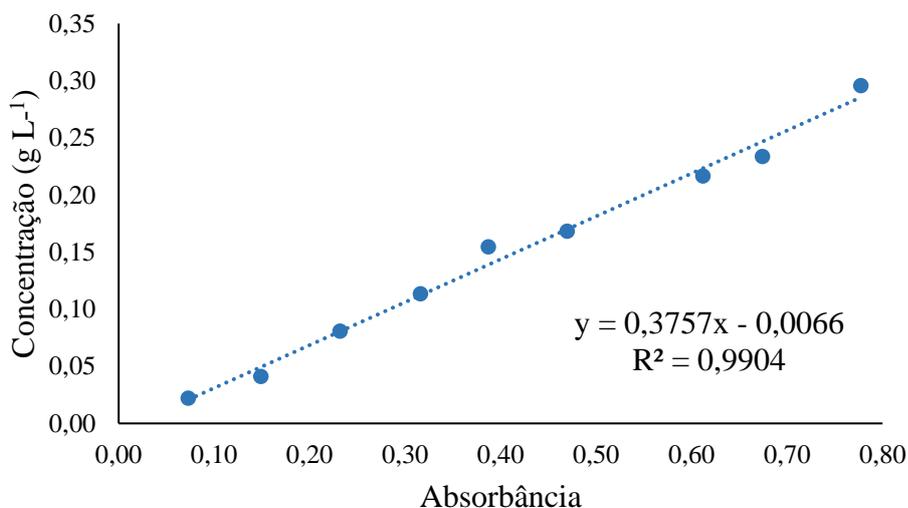
### 3.4 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

#### 3.4.1 Concentração microalgal

Para leitura da concentração microalgal foi realizada uma curva de calibração para obter uma relação entre absorvância e concentração celular. Esta foi realizada através da filtragem de solução com diferentes concentrações de microalga em filtro milipore de 0,45  $\mu\text{m}$ , previamente secos e pesados. Após isso, foi anotado o volume de solução passado pelo filtro, e os filtros foram secos em estufa de circulação a 50° C por 24 h. Ao final, os filtros com a biomassa foram pesados em balança analítica para verificar a massa final da microalga. Para a verificação da absorvância, foi realizada a leitura das diferentes soluções microalgais por espectrofotometria em comprimento de onda de 670 nm (UV-1600, Pró-Tools), em cubetas de plástico de caminho óptico de 1 cm.

A curva padrão está apresentada na Figura 4, obtendo-se a equação da reta e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

Figura 3: Curva de calibração da microalga *Phormidium* sp.



Fonte: A autora, 2022.

Para obter os dados de concentração de biomassa em relação ao tempo de cultivo foi utilizado o software Excel para alcançar a concentração máxima de biomassa ( $X_{max}$ , g L<sup>-1</sup>) e realizar o cálculo da taxa máxima de crescimento específico das microalgas ( $\mu_{max}$ , d<sup>-1</sup>), seguindo a Equação (1):

$$\mu_{max} = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{X_2}{X_1} \quad (1)$$

Portanto,  $X_1$  e  $X_2$  representam, respectivamente, a concentração da biomassa microalgal no início e no final da fase de crescimento exponencial, e  $\Delta t$  é o tempo da fase logarítmica. Assim, a partir da relação do modelo linear, da curva de calibração, retira-se os parâmetros para inserir no modelo logarítmico.

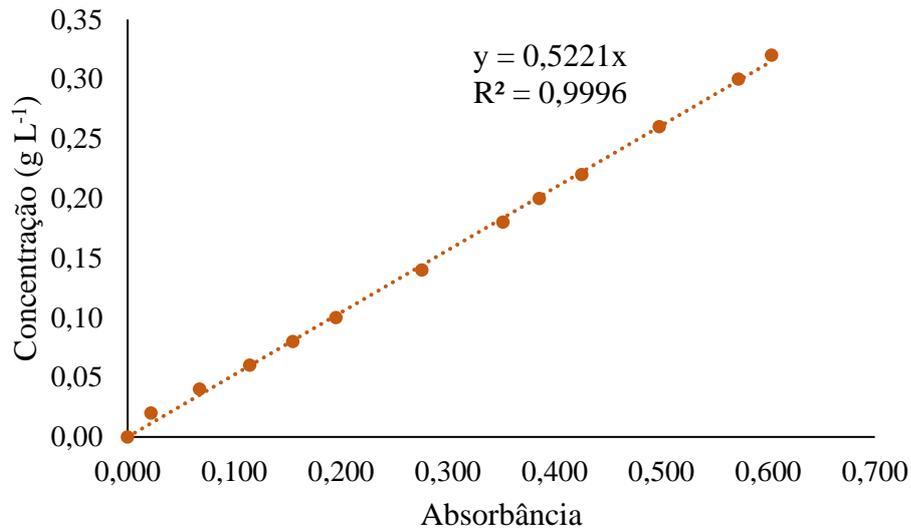
### 3.4.2 Quantificação de açúcar redutor

Ao longo do experimento foram realizadas leituras de concentração de açúcar redutor, para verificação do consumo dos nutrientes dispostos pela adição do soro de leite. O teor em açúcares redutores foi determinado pelo método do reagente de ácido 3,5 – dinitrossalicílico (DNS) (MILLER, 1959).

Primeiramente foi realizada a precipitação de proteínas que poderiam interferir na leitura de açúcar redutor. Para isso, foram retiradas amostras de 8 mL dos biorreatores antes e imediatamente após as adições de soro de leite. Estas amostras foram centrifugadas por 10 minutos a uma velocidade de 5000 rpm. Após a centrifugação, foram adicionados 2 mL da solução em balão volumétrico de 10 mL, seguido da adição de 1 mL de solução Carrez I e 1 mL de solução de Carrez II. O restante foi preenchido por água destilada e em seguida a solução foi centrifugada por 6 minutos a velocidade de 5000 rpm e em seguida filtrada.

Após realizada a precipitação de proteínas, a solução obtida seguiu para análise pelo método DNS. Assim, foi adicionado em tubos de ensaio, 1 mL da amostra filtrada, 1 mL de NaOH e 1 mL de DNS, os tubos de amostra ficaram 5 minutos em banho termostático a 100°C, depois em banho frio. Após isso, foram adicionados 7 mL de água destilada. A absorbância foi obtida por espectrofotômetro em comprimento de onda de 546 nm, com sua curva de calibração definida e apresentada a seguir (Figura 5) (MILLER, 1959).

Figura 4: Curva de calibração do Açúcar Redutor.



Fonte: A autora, 2022.

A curva de calibração da Figura 5 para determinação do açúcar redutor é de lactose, ou seja, serviu como parâmetro para verificar se a microalga utilizou a lactose como fonte de alimento.

### 3.5. ANÁLISES DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

As análises da Demanda Química de Oxigênio (DQO), nitrogênio (N) e fósforo (P) foram realizadas baseadas na metodologia da APHA, 1998.

As análises foram feitas em triplicata do sobrenadante de cada biorreator, do meio de cultivo BGN e o branco em que é aplicado água destilada como amostra.

#### 3.5.1. Análise de DQO

A Demanda Química de Oxigênio, é necessária para medir a porção de oxigênio da matéria orgânica da amostra que é suscetível à oxidação por um forte oxidante.

As amostras citadas acima foram colocadas em tubos de ensaio para DQO que contém tampas e foram adicionados na ordem indicada pela APHA: amostra, solução digestora e a solução catalítica.

Cada tubo de ensaio foi rosqueado e devidamente agitado até a solução ficar homogênea, para acomodá-los em digestor à 150°C por duas horas para ocorrer a digestão, após esse período

de tempo os tubos foram retirados do digestor para realizar o processo de titulação das triplicatas as todos foram 30 amostras.

Para a titulação foram utilizados erlemeyers de 125 mL, sendo adicionados todo o conteúdo do tubo de ensaio e lavado com água destilada, a mesma foi adicionada ao Erlenmeyer, como indicador foi usado 2 gotas do indicador ferroína, e na bureta será utilizado a solução padronizada de sulfato ferroso amoniacal.

Após terminada a titulação (cor marrom) anotou-se a quantidade de sulfato ferroso amoniacal padronizado utilizado na titulação.

A equação a ser utilizada para encontrar o valor da DQO é Equação (2):

$$DQO = \frac{(Br - Am) \times N_{sfa} \times 8000}{Vam} \quad (2)$$

Sendo:

Br: Volume de sulfato ferroso amoniacal padronizado usado na titulação do Branco;

Am: Volume de sulfato ferroso amoniacal padronizado usado na titulação da Amostra;

$N_{sfa}$ : Fator de correção da padronização do sulfato ferroso amoniacal;

Vam: Volume inicial da amostra.

### 3.5.2 Análise de nitrogênio

Para o nitrogênio total foi utilizado o método do Nitrogênio Total Kjeldahl iniciado com 20 mL da amostra em tubo macro Kjeldahl, e adicionar 1 g de mistura catalítica em pó seguido de  $H_2SO_4$  concentrado. Digerir a  $350^\circ C$ , por 30 min. até resultar na coloração esverdeada.

Na destilação será adicionada ao tubo 10 mL de água destilada e NaOH 50% no recipiente do equipamento e recolher um erlenmeyer que continha 20 mL de solução de ácido bórico até chegar a 100 mL de destilado. A titulação será com uma solução de  $H_2SO_4$  0,01 mol L<sup>-1</sup> padronizado, a solução deverá passar de verde para roxo claro.

Na análise ocorrem as seguintes reações:





Para chegar ao resultado o volume titulado e a amostra de 20 mL o valor em  $\text{mg L}^{-1}$  será calculado pela Equação (4).

$$\text{Concentração Nitrogênio (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{0,28 \times V_{\text{titulado}}}{0,020\text{L}} \quad (4)$$

Sendo o  $V_{\text{titulado}}$  o valor do volume titulado da amostra menos o volume titulado do branco como está apresentado na Equação (5).

$$V_{\text{titulado}} = (V_{\text{titulado da amostra}} - V_{\text{titulado do branco}}) \quad (5)$$

### 3.5.3 Análise de Fósforo

A princípio foi transferido 50 mL da amostra pra um Erlenmeyer de 125 mL, adicionando 1 gota de fenolftaleína, após foi adicionado o persulfato de potássio ou persulfato de amônio, adicionado 1 mL de ácido sulfúrico, fechado com papel alumínio e levado a autoclave a  $121^\circ\text{C}$  por 30 min., após foram retirados os erlenmeyer da autoclave e aguardado esfriar.

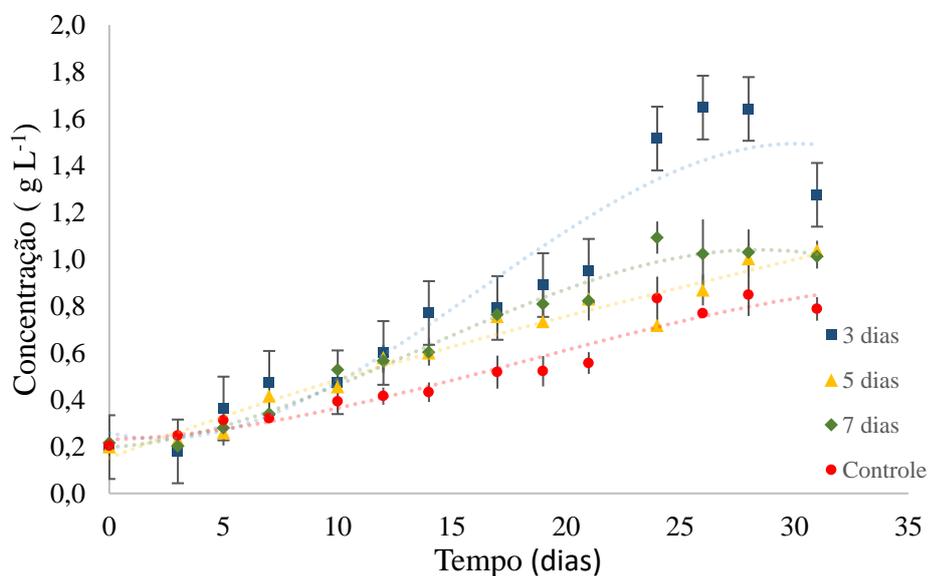
Adicionou-se 3 gotas de fenolftaleína e transferiu-se o conteúdo do erlenmeyer para um balão volumétrico de 10 mL e completado com água destilada. Pipetou-se 50 mL do conteúdo do balão volumétrico em Erlenmeyer de 125 mL. Adicionou-se ao mesmo tempo 1 mL de ácido ascórbico e 5 mL do reagente Armstrong. Aguardou-se por 20 min até ficar um tom azul fraco. Leu-se a absorbância em espectrofotômetro a 880 nm em cubeta, o branco serviu como referência.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 CRESCIMENTO MICROALGAL

A concentração da microalga *Phormidium* sp. ao longo do tempo de cultivo está apresentada na Figura 6, para os experimentos com adição de soro de leite a cada 3, 5 e 7 dias, e para o ensaio controle.

Figura 5: Concentração de biomassa versus tempo para os cultivos adicionados de soro de leite a cada 3, 5 e 7 dias e para o ensaio controle.



Na Figura 6 se observa que a maior concentração final foi obtida em experimentos com a adição de soro de leite a cada três dias, em relação à mesma unidade de tempo que os demais experimentos. Nas adições de intervalo de tempo de 5 e 7 dias houve um crescimento celular mais lento. Foi observada morte celular nos reatores 1 e 3, correspondendo as adições com intervalos de 3 e 5 dias (Figura 7). O controle demonstrou um crescimento celular menor em relação aos experimentos que tiveram a adição do soro de leite, demonstrando que a *Phormidium* sp. utilizou o soro de leite como fonte de nutrientes.

Figura 6: Resultado após 30 dias de experimento.



Fonte: A autora, 2022.

Em relação à velocidade máxima de crescimento ( $\mu_{\max}$ ) houve diferença entre a adição de soro a cada 3 dias das demais adições, mostrando que a microalga tem potencial e resistência ao consumir o soro de leite. Todas as adições tiveram diferença significativa em relação ao controle, pois foi observada uma maior velocidade máxima de crescimento nos experimentos com adição de soro de leite. Assim, indicou-se que a microalga utilizou o soro como fonte de carbono para o cultivo mixotrófico. O mesmo comportamento foi observado na concentração máxima da microalga ( $[X]_{\max}$ ), sendo que todos os experimentos tiveram maior concentração máxima em relação ao experimento controle. Mostrando o potencial da microalga na valoração do efluente e talvez em um tratamento terciário de águas residuárias de laticínios.

Esses resultados se referem a produção antes da fase de declínio e morte da microalga, levando a conclusão que para o número de dias de cultivo da espécie, há uma previsão de quantos ciclos de cultivo podem ser realizados, bem como quantificar a produção de biomassa para cada litro do cultivo.

Tabela 7: Velocidade máxima de crescimento e concentração máxima da microalga *Phormidium* sp.

Experimento	$\Delta t_{\log}$ (d)	$\mu_{\max}$ (d <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$[X]_{\max}$ (g L <sup>-1</sup> )
3 dias	1 a 14	0,105 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,929	1,676 ± 0,025 <sup>a</sup>
5 dias	1 a 17	0,086 ± 0,008 <sup>b</sup>	0,945	1,028 ± 0,068 <sup>b</sup>
7 dias	1 a 17	0,087 ± 0,018 <sup>b</sup>	0,957	1,096 ± 0,071 <sup>b</sup>
Controle	1 a 17	0,054 ± 0,005 <sup>c</sup>	0,969	0,874 ± 0,083 <sup>c</sup>

Letras iguais na mesma coluna para cada microalga não apresentam diferença significativa em relação ao teste de Tukey ( $p > 0,05$ )

## 4.2 CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCAR REDUTOR

As determinações de açúcares redutores ao longo do tempo foram realizadas a fim de avaliar a cinética de consumo de lactose ao longo do tempo, o que está demonstrado nas Figuras 8, 9 e 10. A microalga consumiu a lactose.

Figura 7: Adição de soro de leite a cada 3 dias.

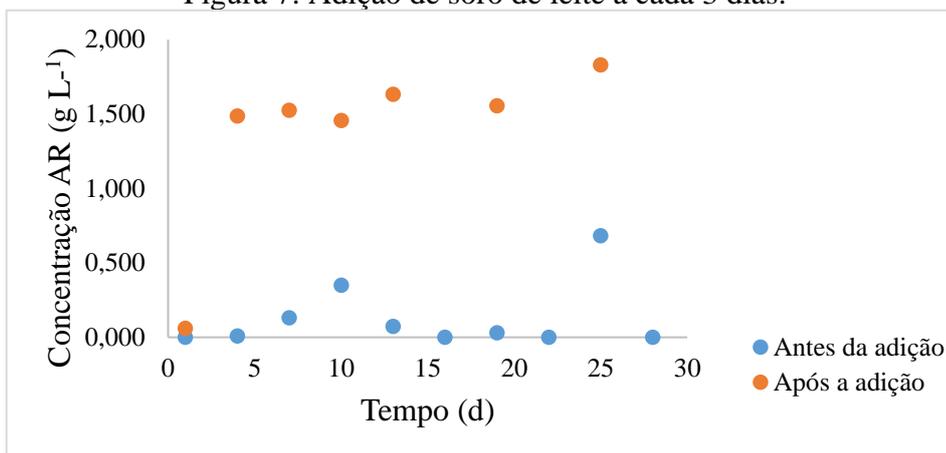


Figura 8: Adição de soro de leite a cada 5 dias.

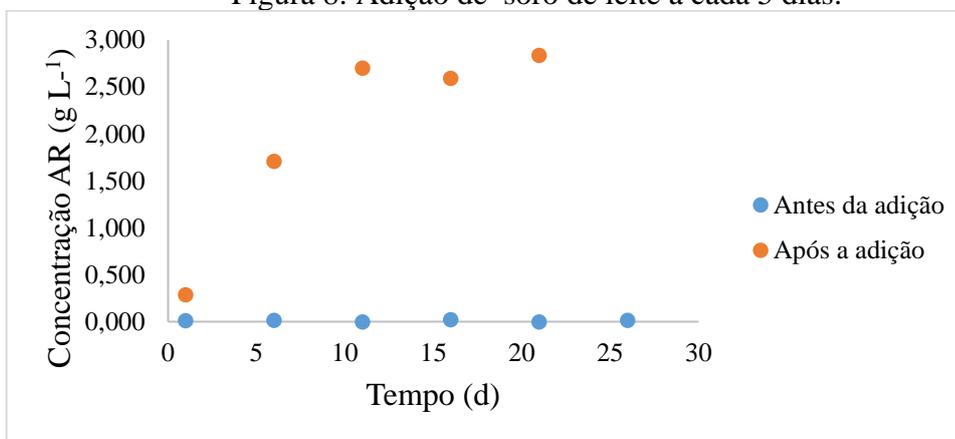
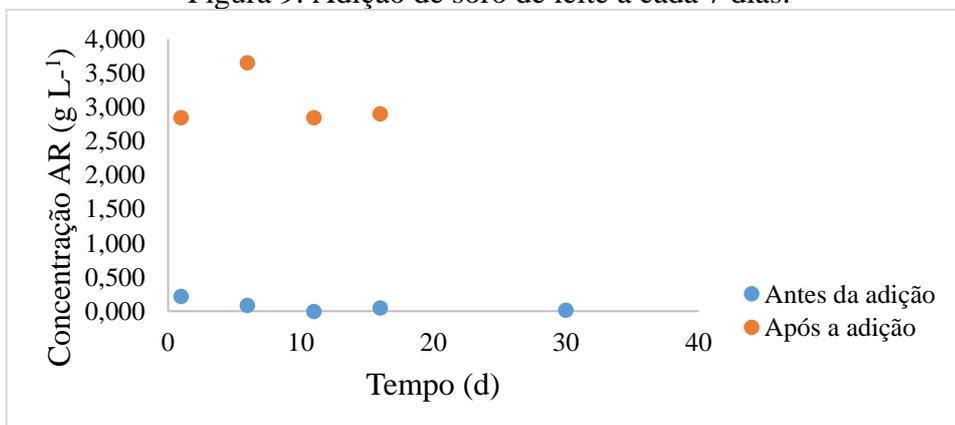


Figura 9: Adição de soro de leite a cada 7 dias.



### 4.3 REMOÇÃO DE NUTRIENTES DO SORO DE LEITE POR MICROALGAS

Para verificar se a microalga *Phormidium* sp. também poderia promover o tratamento do soro de leite, foram realizados ensaios para obter os valores dos seguintes parâmetros: DQO, N e P ao longo dos cultivos. Entretanto, deve-se considerar que as análises realizadas dizem respeito não somente ao soro de leite, mas sim de todo o meio de cultivo utilizado para o cultivo algal, incluindo as fontes de N e P presentes no meio padrão.

A Tabela 8 apresenta a caracterização do soro de leite in natura, obtido através confecção de queijos no prédio L1 da Universidade de Passo Fundo, e a caracterização do sobrenadante obtido após a centrifugação do meio de cultivo e microalga após 30 dias de cultivo.

Tabela 8: Caracterização do soro de leite e sobrenadante após 30 dias de cultivo microalgal.

	<b>DQO (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>P (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>N (mg L<sup>-1</sup>)</b>
Soro de leite in natura	75688,6 ± 0,0	375,4 ± 9,2	175,7 ± 12,9
Ensaio: intervalo de 3 dias entre adições	219,09 ± 59,82	40,94 ± 2,21	3,5 ± 0,13
Ensaio: intervalo de 5 dias entre adições	203,60 ± 22,22	26,09 ± 2,36	2,0 ± 0,37
Ensaio: intervalo de 7 dias entre adições	216,87 ± 70,57	23,45 ± 2,37	2,5 ± 0,50
Ensaio: Controle	168,19 ± 15,33	11,14 ± 1,44	0,3 ± 0,18

Fonte: A autora, 2022.

Para verificar se ocorreu o tratamento do meio de cultivo com adição de soro de leite foram calculados os teores de P, N e DQO adicionados no biorreator ao longo dos 30 dias de cultivo. Assim, na Tabela 9 estão apresentados os resultados esperados de cada parâmetro após a adição do soro de leite, e os parâmetros obtidos após as análises do sobrenadante. O resultado esperado foi calculado através do volume de soro de leite adicionado ao longo dos experimentos considerando o volume útil do reator. Nos resultados obtidos estão apresentados os valores dos parâmetros finais e também o valor considerando o desconto dos ensaios controle (onde não teve adição de soro de leite).

Tabela 9: Resultados esperados e obtidos de DQO, P e N.

<b>DQO</b>				
<b>Ensaio</b>	<b>Volume soro adicionado (mL)</b>	<b>DQO adicionada (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>DQO final (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>DQO final – DQO ensaio controle (mg L<sup>-1</sup>)</b>
Adição 3 dias	172,35	6522,5	219,1	50,9
Adição 5 dias	95,75	3623,6	203,6	35,4
Adição 7 dias	76,6	2898,9	216,9	48,7
<b>FÓSFORO</b>				
<b>Ensaio</b>	<b>Volume soro adicionado (mL)</b>	<b>P adicionado (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>P final (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>P final - P ensaio controle (mg L<sup>-1</sup>)</b>
Adição 3 dias	172,35	32,35	40,9	17,2
Adição 5 dias	95,75	17,97	26,1	2,3
Adição 7 dias	76,6	14,37	23,5	0,0
<b>NITROGÊNIO</b>				
<b>Ensaio</b>	<b>Volume soro adicionado (mL)</b>	<b>N adicionado (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>N final (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>N final - N ensaio controle (mg L<sup>-1</sup>)</b>
Adição 3 dias	172,35	15,14	3,5	3,2
Adição 5 dias	95,75	8,41	2,0	1,7
Adição 7 dias	76,6	6,72	2,5	2,2

Fonte: A autora, 2022.

Conforme pode ser observado na Tabela 9, a microalga *Phormidium* sp. mostrou-se eficiente na remoção dos parâmetros de DQO, P e N, sendo que os resultados obtidos após o desconto dos ensaios controle, foram menores que os resultados esperados, ou seja, a adição desses parâmetros no meio de cultivo. Assim, essa microalga pode ser usada na valoração de efluentes de laticínios em geral, uma vez que é eficiente em tratar esse efluente concentrado (soro de leite).

Em uma relação entre DQO total adicionada e DQO final menos ensaio controle resultou na Tabela 9 em que houve uma remoção de 99% da DQO contida no soro de leite na adição de 3 dias, 98% na adição 5 dias e 99% na adição de 7 dias. Mostrando que a microalga é mais

eficiente em remover DQO na adição a cada de 3 dias. No Fósforo houve uma menor redução na adição a cada 3 dias resultando em 53,17%, na adição a cada 5 dias resultou 87,20% e na adição a cada 7 dias 93,04%. Já no Nitrogênio houve uma remoção de 78,86% na adição de 3 dias, na adição de 5 dias resultou em 79,78% e 67,26% na adição a cada 7 dias.

#### 4.4 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE CARBOIDRATOS E PROTEÍNAS

Na Tabela 10 estão apresentados os parâmetros de carboidratos e proteínas para a caracterização bioquímica da biomassa.

Tabela 10: Resultados obtidos e carboidratos e proteínas.

<b>Ensaio</b>	<b>% de Carboidrato</b>	<b>% de Proteína</b>
Adição 3 dias	17,14 ± 2,42 <sup>b</sup>	38,95 ± 6,31 <sup>b</sup>
Adição 5 dias	24,63 ± 4,99 <sup>a</sup>	36,40 ± 1,65 <sup>b</sup>
Adição 7 dias	16,58 ± 1,32 <sup>b</sup>	52,79 ± 7,62 <sup>a</sup>
Controle	15,71 ± 6,95 <sup>b</sup>	40,77 ± 7,00 <sup>b</sup>

Letras iguais na mesma coluna para cada microalga não apresentam diferença significativa em relação ao teste de Tukey (p>0,05)

Como houve um alto teor de carboidratos e proteínas conclui-se que a microalga poderia ser utilizada como biofertilizante, pois além de conter uma alta quantidade de carboidratos também possui uma grande quantia de proteínas significando que a microalga reteve carbono e nutrientes como o Fósforo e o Nitrogênio que são essenciais para o desenvolvimento das plantas.

Conclui-se que a adição de 5 dias foi o melhor resultado para carboidratos e a adição de 7 dias o melhor em proteínas. Indicando que essas adições resultariam em bons biofertilizantes.

Já para o bioetanol, Lupatini (2016) utilizou um planejamento experimental juntamente ao tratamento ultrassônico e agitação que resultou em maior rompimento celular, fazendo com que aumentasse a disponibilidade dos componentes obtendo 75,85% de recuperação proteica. Também cita outros autores que obtiveram resultados satisfatórios ao utilizar ondas ultrassônicas no rompimento celular chegando a recuperação superior a aquela encontrada no estudo de Lupatini (2016). Rempel (2018) cita autores que usaram no estudo carboidratos microalgais na produção de bioetanol que tiveram resultados parecidos e todos passaram de

70% de carboidratos para produzir o bioetanol. Então conclui-se que para a produção de bioetanol seria mais indicado valores de carboidratos e proteínas acima de 50%.

## 5. CONCLUSÕES

O estudo foi um grande desafio, pois não há muitos relatos do uso da microalga *Phormidium* sp. no Brasil, inclusive sobre o assunto deste trabalho, que foi o cultivo da microalga *Phormidium* sp. em meio com adição de soro de leite, a maior dúvida foi se a microalga sobreviveria as adições de soro de leite.

Ao decorrer do estudo, surgiram algumas conclusões:

- A microalga *Phormidium* sp. sobrevive a adição de soro de leite a 1% indicando a utilização dos nutrientes do efluente para crescimento algal;
- Houve a valoração do efluente, com remoção de parâmetros como P e N do soro, os quais foram convertidos em biomassa;
- A composição química da biomassa indica que a mesma pode ser utilizada como biofertilizante em culturas agrícolas;

Isso demonstrou que a microalga pode ser cultivada e é uma nova alternativa na produção de biofertilizantes, podendo diminuir os custos na produção agrícola e ainda valorar o soro de leite que seria descartado pelas indústrias.

## **6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Em trabalhos futuros sugiro testar se a microalga sobreviveria em soro com adição de sal, pois o soro em estudo era puro sem a adição do mesmo. Também sugiro realizar testes para verificar se a microalga sobreviveria em maiores adições de soro de leite em relação ao volume útil do biorreator. Ainda, pode-se testar como biofertilizante em plantações agrícolas para verificar qual seria o resultado do mesmo.

## REFERÊNCIAS

ALMOMANI, Fares; et al.. Comprehensive insights into conversion of microalgae to feed, food, and biofuels: Current status and key challenges towards implementation of sustainable biorefineries. **Chemical Engineering Journal**. V. 10.1016 p. 140588, 2022.

ANA, Agência Nacional de Águas. **Indicadores De Qualidade - Índice De Qualidade Das Águas (Iqa)**. Brasil, 2022.

ANDRADE, Laura Hamdan de. **Tratamento de efluentes de indústria de laticínios por duas configurações de biorreator com membranas e nanofiltração visando o reúso**. 2011. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Belo Horizonte, 2011.

ANDRADE, Lidiane Maria de. **Produção de Microalgas e Caracterização de sua Composição Protéica e Lipídica via espectrometria de Massas**. 2014. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

APHA, AWWA, WEF, 1998. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 20th ed. Washington.

ARIAS, Dulce Maria; GARCIA, Joan; UGGETTI, Enrica. Production of polymers by cyanobacteria grown in wastewater: Current status, challenges and future perspectives. **New Biotechnology**, v. 55, p. 46 – 57, 2020.

ASIRI, Fahad; CHU, Kung-Hui. Valorization of agro-industrial wastes into polyhydroxyalkanoates-rich single-cell proteins to enable a circular waste-to-feed economy. **Chemosphere**, V. 309, p. 136660, 2022.

BARBOSA, Igor Silva. **Análise dos Parâmetros Físico-químicos e Metais Presentes nas Nascentes do Rio Meia Ponte**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa Programa de Pós-Graduação, Goiânia , 2015.

BEZERRA, Raquel Pedrosa. **Cultivo descontínuo alimentado de Arthrospira (Spirulina) platensis em reator tubular utilizando uréia como fonte de nitrogênio e CO2 puro ou proveniente de fermentação alcoólica**. 2010. Tese (Doutorado Departamento de Tecnologia Bioquímico – Farmacêutica) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Departamento de Tecnologia Bioquímico, 2010.

BENTAHAR, Jihed; et al.. Acid whey permeate: An alternative growth medium for microalgae *Tetrademus obliquus* and production of  $\beta$ -galactosidase. **Algal Research**, v. 41, p. 101559, 2019.

BRANCO, Fred Solon Batista Castello. **Efeito da Salinidade na produção de exopolissacarídeos pela microalga *Spirulina platensis***. 2010. Trabalho de Conclusão de

Curso (Bacharelado em Engenharia da Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia de Pesca, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2010.

CASTRO, Jackeline Siqueira de; et al.. Microalgae based biofertilizer: A life cycle approach. **Science of the Total Environment**. V. 724, p. 138138, 2020.

CCALA. *Phormidium* sp. Disponível em: <https://ccala.butbn.cas.cz/en/phormidium-sp> . Acesso em: 30 abr. 2022.

CONAMA. **Resolução n 430, 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.

CONSEMA. **Resolução n 355, 19 de julho de 2017**. Dispõe sobre os critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos para as fontes geradoras que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul.

COSTA, Jorge Alberto Vieira; et al.. Biosynthesis and potential applications of terpenes produced from microalgae. **Bioresource Technology Reports**, v. 19, p. 101166, 2022.

DANTAS, Danielli Matias de Macêdo. **Atividades biológicas das preparações obtidas das Clorofíceas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus subspicatus* Chodat e suas potenciais aplicações biotecnológicas**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Recife, 2013.

EMBRAPA. Determinação de Açúcares Redutores pelo Ácido 3,5-Dinitrosalicílico: Histórico do Desenvolvimento do Método e Estabelecimento de um Protocolo para o Laboratório de Bioprocessos. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. v. 1, Brasil, 2013.

FERREIRA, Ana Rafaella dos Santos. **Resistência e bioacumulação de arsênio na cianobactéria *Phormidium* sp.** 2012. Dissertação (Mestrado ao Programa de Pós Graduação em Biologia Ambiental) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Estudos Costeiros, Programa de Pós Graduação em Biologia Ambiental, Bragança, 2012.

FONTOURA, Julia Tolfo da. **Crescimento de microalgas em efluente de curtume: remoção de nutrientes, viabilidade de produção de biodiesel e utilização da biomassa residual**. 2017. Tese (Doutorado ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de Engenharia, Departamento de Engenharia Química, Programa de Pós graduação em Engenharia Química, Porto Alegre, 2017.

FREITAS, Bárbara Catarina Bastos de. **Cultivo de Microalgas Utilizando Pentoses como Fonte de Carbono**. 2012. Dissertação (Mestrado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2012.

GERHARDS Christian; SCHRAMM Maria; SCHMID Andreas. Use of the Weibull distribution function for describing cleaning kinetics of high pressure water jets in food industry. **Journal of Food Engineering**, v. 253 p. 21 - 26, 2019.

GORGÔNIO, Cristiane Mesquita da Silva. **Aplicação de Tecnologia Enzimática para a Obtenção de Hidrolisados Protéicos de Microalgas**. 2013. Tese (Doutorado ao programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

GOSWAMI, Rahul Kumar; et al.. Microalgae-based biorefineries for sustainable resource recovery from wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, p. 101747, 2020.

HENARES, Juliana Ferreira. Caracterização do efluente de laticínio: análise e proposta de tratamento. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento Acadêmico de Alimentos, Curso Superior de Engenharia de Alimentos. Campo Mourão, 2015.

HERNÁNDEZ, José González; et al.. Optimización de temperatura en reactores raceway para la producción de microalgas mediante regulación de nivel. **Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial**, V. 19 p. 164 – 163, 2022.

KUMAR, Vinay; et al. Emerging challenges for the agro-industrial food waste utilization: A review on food waste biorefinery. **Bioresource Technology**, V. 362 p. 127790, 2022.

LI, Peiyao; LUO, Yiqing; YUAN, Xigang. Life cycle and techno-economic assessment of source-separated wastewater-integrated microalgae biofuel production plant: A nutrient organization approach. **Bioresource Technology**, V. 344, p. 126230, 2022.

LUPATINI, Anne Luize. **Extração de Proteínas e Carboidratos da Biomassa de *Spirulina Platensis* e Caracterização da Fração Proteica**. 2016. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2016.

MARGARITES, Ana Cláudia Freitas. **Síntese de Carboidratos por Microalgas e Produção de Bioetanol**. Tese (Doutorado ao Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, 2014.

MENDES, Rafael Martins; ALBUQUERQUE, Y.D.T.; CARRIJO, R. M.C.. **Investigação de Métodos de Tratamento de Soluções Residuais de DQO para a Recuperação de Hg<sup>2+</sup> e Cr<sup>3+</sup>**.

MESSIAS, Raquel de Aquino. **Ozonização catalítica de efluente de laticínio em processo semi-batelada com reciclo**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências do Programa de Pós-28 Graduação em Engenharia Química) - Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena, Lorena, 2015.

OZEL, Baris; et al.. Challenges in dried whey powder production: Quality problems. **Food Research International**, V. 160 p. 111682, 2022.

PERREIRA, Maria Isabel Batista. **Avaliação do cultivo mixotrófico da *Spirulina Platensis* (*arthrospira platensis*) utilizando soro de queijo mozzarella de Búfala como fonte de carbono orgânico**. 2017. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós Graduação em Produção Animal, Macaíba, 2017.

PRASANNABALAJI, Nainangu; et al.. *In vitro* screening of antimicrobial, antioxidant, cytotoxic activities, and characterization of bioactive substances from freshwater cyanobacteria *Oscillatoria*

sp. SSCM01 and *Phormidium* sp. SSCM02. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, p. 101772, 2020.

REMPEL, Alan. **Produção de Bioetanol e Biometano a partir da Biomassa de *Spirulina* sp.** 2018. Dissertação (Mestrado Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.

RIANO, Berta; et al.. Bioremediation and biomass harvesting of anaerobic digested cheese whey in microalgal-based systems for lipid production. **Ecological Engineering**, v. 97, p. 40 – 45, 2016.

RODRIGUES, Lauana. **Aplicações da Tecnologia de Cultivo de Microalgas Verdes com Vistas à Biorremediação de Efluentes e Produção de Bioativos.** 2022. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022.

SAINI, Neah; et al.. Thermophilic algae: A new prospect towards environmental sustainability. **Journal of Cleaner Production**, v. 324, p. 129277, 2021.

SALLA, Ana Cláudia Vieira. **Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em meio Zarrouk diluído adicionado de resíduo de indústria láctea.** 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Passo Fundo, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos, Passo Fundo, 2016.

SANTOS, Adriéli Borges. **Avaliação de fração volátil de *Phormidium autumnale* em biorreatores heterotróficos.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Santa Maria, 2015.

SANTOS, Aline Meireles dos. **Biorreatores heterotróficos microalgais aplicados ao tratamento de efluentes agroindustriais.** 2020. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Santa Maria, 2020

SANTOS, Daniela Aparecida. **Microalgas aplicadas ao tratamento de efluentes oriundos de laticínios.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Química, Curso de Graduação em Engenharia Química, Uberlândia, 2018.

SCHMIDELL, Willibaldo, et al.. **Biotecnologia Industrial** v. 2 – Engenharia Bioquímica, 2 ed. 2021.

SILVA, Ana Clara Mendes da, et al.. Biofertilizantes de microalgas: Desafios para uma produção competitiva e sustentável. **7º Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de Biodiesel**, Florianópolis, Santa Catarina, 2019.

SILVA, Elizabeth Venialgo Hotz Da. **Cultivo de Microalgas *Scenedesmus Subspicatus* com Efluente Avícola como Meio de Cultura Alternativo.** Relatório de Estágio (Tecnólogo em Biotecnologia). – Universidade Federal do Paraná, Curso de Tecnologia em Biotecnologia da Universidade Federal do Paraná, Palotina, 2018.

SINHORA, Vanderleia. **Separação de biomassa microalgal gerada no tratamento de efluente**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Pelotas, Centro de Engenharias, Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Pelotas, 2014.

SIROHI, Ranjna; et al.. Waste mitigation and resource recovery from food industry wastewater employing microalgae-bacterial consortium. **Bioresource Technology**, v. 352, p. 127129, 2022.

SPOLAORE, Pauline; et al.. Commercial Applications of Microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, p. 87 – 96, 2006.

SOUSA, Weberton Dantas de. **Filtro anaeróbio tipo cynamon adaptado para tratamento de efluentes da indústria de laticínios**. 2019. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais, Pombal, 2019.

SUCHITHRA, M. R.; et al..Effectiveness of green microalgae as biostimulants and biofertilizerthrough foliar spray and soil drench method for tomato cultivation. **South African Journal of Botany**, V. 146, p. 740 - 750, 2022.

SUMANTRI, Indro; PRIYAMBADA, Ika Bagusb. Production of Spirulina sp by utilization of wastewater from the powder type energy drinks. **International Conference of Chemical and Material Engineering: Green Technology for Sustainable Chemical Products and Processes**, v. 1699, p. 117825, 2015.

SZWARC, Karolina; SZWARC, Dawid; ZIELINSKI, Marcin. Removal of biogenic compounds from the post-fermentation effluent in a culture of *Chlorella vulgaris*. **Environmental Science and Pollutin Research**, 111-117, 2020.

TEIXEIRA, Gustavo Galastri. **Determinação de Açúcar em Amostras Alimentícias a Partir de Imagens Digitais**. 2022. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Química, Curitiba, 2022.

WEI, Xuemin; et al.. Bacillus and microalgae biofertilizers improved quality and biomass of *Salvia miltiorrhiza* by altering microbial communities. **Chinese Herbal Medicines**, p. 10116 2022.

YAASHIKAA, P. R.; et al.. Valorization of agro-industrial wastes for biorefinery process and circular bioeconomy: A critical review. **Bioresource Technology**, V. 343, p. 126126, 2022.

ZANCANELA, Débora Akemi Ide; et al. Study of Sustainability Indicators for Environmental Management in Hydrographic Basins. **Smart Innovation, Systems and Technologies**, v. 207, p. 44 – 55, 2021.

ZHANG, Junlong; et al. Optimizing effluent trading and risk management schemes considering dual risk aversion for an agricultural watershed. **Agricultural Water Management**, v. 269, p. 107716, 2022.

ZUCCARI, Maria Lúcia, et al.. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) em Águas e Efluentes por Método Colorimétrico Alternativo. **Energ. Agric, Botucatu**, v. 20, p. 69 – 82, 2005.