



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CAMPUS ALTO PARAOPÉBA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Estudo do Potencial do Uso de Microalgas para a Produção de Biodiesel e Outros Bioprodutos

AUTORA: ANA ELISA ALVES MAGRO

ORIENTADOR: ENIO NAZARÉ OLIVEIRA JUNIOR

Ouro Branco - MG
Novembro/2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CAMPUS ALTO PARAOPÉBA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Estudo do Potencial do Uso de Microalgas para a Produção de Biodiesel e Outros Bioprodutos

Ana Elisa Alves Magro

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial às exigências do curso de Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos do Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos da Universidade Federal de São João del Rei.

Ouro Branco - MG
Novembro/2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CAMPUS ALTO PARAÓPEBA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Estudo do Potencial do Uso de Microalgas para a Produção de Biodiesel e Outros Bioprodutos

Ana Elisa Alves Magro

A Banca Examinadora, composta pelos membros abaixo, avaliou este TCC:

Ênio Nazaré Oliveira Junior – Orientador

Boutros Sarrouh – Examinador 1

Edson Romano Nucci – Examinador 2

Ouro Branco - MG
Novembro/2016

RESUMO

O presente trabalho aborda os principais tipos de cultivos de microalgas e os principais produtos extraídos destas, que vem se tornando de grande interesse no meio sustentável, principalmente na produção de biodiesel. A utilização destes produtos também cresce no ramo de energia, farmácia, cosméticos, alimentos e no tratamento de efluentes. Características morfológicas e fisiológicas, além dos nutrientes e fatores físicos no cultivo de microalgas, são determinantes na qualidade e quantidade do produto final a ser extraído. Cultivos de microalgas são estudados, como os cultivos em tanques abertos de baixo custo e cultivos em fotobiorreatores, que obtêm alta produção, porém, com alto custo de operação e construção. Os principais métodos de extração de lipídios e etapas são abordados, destacando-se a utilização de solventes orgânicos para a extração com metodologias diferentes, como o extrator *Soxhlet*. Melhorias e estudos sobre biorrefinarias de microalgas estão tornando o uso e cultivo desses micro-organismos cada dia mais viável, diminuindo custos e otimizando a produção de bioprodutos. Porém, a inserção comercial desses bioprodutos ainda é um desafio, devido ao alto custo de produção, principalmente quando se trata da produção de biodiesel.

Palavras-chave: microalgas, extração de lipídios, biodiesel, biorrefinarias, aplicações biotecnológicas.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
3.1. Histórico	2
3.2. Microalgas	4
3.2.1. Fisiologia e morfologia	9
3.2.2. Plantas versus Microalgas na produção de bioprodutos	10
3.2.3. Fatores que influenciam no metabolismo das microalgas	11
3.2.3.1. Iluminação	11
3.2.3.2. Temperatura	12
3.2.3.3. Aeração e agitação	12
3.2.3.4. pH.....	12
3.2.3.5. Nutrientes	13
4. APLICAÇÕES.....	14
4.1. Farmacêutica e cosmética	15
4.2. Tratamento de água	16
4.3. Alimentícia	17
4.3.1. Ácidos graxos poli-insaturados	17
4.2.2. Caroteno, betacaroteno e astaxantina	18
4.4. Produção de energia	20
4.4.1. Biogás.....	20
4.4.2. Biodiesel.....	21
5. PRODUÇÃO DE MICROALGAS	25
5.1. Cultivo	26
5.1.1. Cultivo fechado (fotobiorreator)	26
5.1.2. Cultivo aberto	27
5.2. Espécies de microalgas	29
5.3. Separação de água da biomassa microalgal.....	30
5.3.1. Centrifugação.....	31
5.3.2. Floculação.....	31
5.3.3. Filtração.....	31
5.4. Rompimento celular	31
6. EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS VOLTADOS À PRODUÇÃO DE BIODIESEL	32
6.1. Solventes orgânicos.....	32
6.2. Métodos gravimétricos com solventes orgânicos	34
6.2.1. Soxhlet.....	35
6.2.2. Método de <i>Bligh e Dyer</i>	36
6.3. Ultrassom e micro-ondas com e sem o auxílio de solventes orgânicos.....	37
6.3.1. Ultrassom.....	37
6.3.2. Ultrassom sem o uso de solventes orgânicos	37
6.3.3. Micro-ondas	38
6.4. Quantificação de lipídios.....	39
6.5. Transesterificação.....	40
7. BIORREFINARIAS DE MICROALGAS	42

8. VANTAGENS E LIMITAÇÕES DO CULTIVO DE MICROALGAS.....	43
9. SITUAÇÃO DO MERCADO E SUAS PERSPECTIVAS	44
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Planta piloto para cultivo de microalgas pela Petrobras juntamente com a UFRN na cidade de Extremoz, RN.	11
Figura 2 - Diversidades de algas verdes. A) <i>Pterosperma</i> ; B) <i>Nephroselmis</i> ; C) <i>Palmophyllum</i> ; D) <i>Tetraselmis</i> ; E) <i>Chlorella</i> ; F) <i>Oocystis</i> ; G) <i>Haematococcus</i> ; H) <i>Pediastrum</i> ; I) <i>Bulbochaete</i> ; J) <i>Chaetophora</i> ; K) <i>Ulothrix</i> ; L) <i>Ulva</i> ; M) <i>Cladophora</i> ; N) <i>Boergesenia</i> ; O) <i>Acetabularia</i> ; P) <i>Caulerpa</i> ; Q) <i>Klebsormidium</i> ; R) <i>Spirotaenia</i> ; S) <i>Nitella</i> ; T) <i>Micrasterias</i> ; U) <i>Coleochaete</i>	13
Figura 3 - Ilustração do Cloroplasto, onde ocorre as fases fotoquímica (clara) e química (escura) da fotossíntese.	15
Figura 4 - Ciclo de Calvin.	16
Figura 5 - Formas direta e indireta de ingestão de ômega 3 a partir de microalgas.	26
Figura 6 - Micrografia da <i>Haematococcus pluvialis</i> , desde célula verde até o início de produção de astaxantina, tornando a célula avermelhada.	27
Figura 7 - Diferentes ácidos graxos encontrados no biodiesel.	30
Figura 8 - Esquema de um sistema de fotobiorreator tubular (A) e a vista parcial do fotobiorreator (B) localizado em Klötze, Alemanha.	35
Figura 9 - Cultivo de microalgas em tanques abertos.	37
Figura 10 - Diferentes gêneros de microalgas. (A) <i>Scenedesmus sp.</i> , (B) <i>Botryococcus sp.</i> , (C) <i>Chlorella sp.</i> , (D) <i>Monoraphidium sp.</i> (E) <i>Navicula sp.</i> , (F) <i>Chlamydomonas sp.</i>	38
Figura 11 - Método de extração de lipídios em microalgas usando solventes: a) cultura de microalgas; b) centrifugação; c) aquecimento em forno; d) maceramento da biomassa; e) adição de biomassa microalgal e solventes orgânicos; f) separação de células dos solventes orgânicos; g) evaporação dos solventes; h) adição de metanol e catalizador para transesterificação.	42
Figura 12 - <i>Soxhlet</i> utilizado para extração de lipídios: 1) solvente sendo aquecido; 2) balão volumétrico; 3) orifício de evaporação do solvente; 4) reservatório da biomassa a sofrer extração; 5) microalgas; 6) retorno do solvente já carregando lipídios; 7) orifício de passagem da solução solvente-lipídio; 8) ligação da vidraria onde ocorre a extração e o condensador de solvente; 9) condensador; 10) entrada de água para troca de calor; 11) saída de água.	44
Figura 13 - Reação de transesterificação.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teores de carbono, nitrogênio, hidrogênio e proteína na biomassa seca das respectivas microalgas estudadas por OHSE e DERNER (2009).	17
Tabela 2 - Conteúdo e produtividade de óleo de algumas espécies de microalgas.	31
Tabela 3 - Rendimento de plantas oleaginosas e microalgas utilizadas na produção de biodiesel.	33
Tabela 4 - Comparação de cultivo aberto e fotobiorreator (cultivo fechado).	36
Tabela 5 - Diferentes resultados observados em espécies de microalgas.	37

1. INTRODUÇÃO

De acordo com o relato do *Energy Information Administration* (2014), o consumo de energia no mundo irá crescer aproximadamente 56% entre 2010 e 2040. Se o desenvolvimento continuar no mesmo ritmo, o mundo irá enfrentar uma crise energética, com o esgotamento do petróleo em menos de 30 anos. Além do fato das fontes de combustíveis fósseis serem limitadas, o uso extensivo deste contribui para o aumento de CO₂ atmosférico resultando no aquecimento global (ABOMOHRA *et al.*, 2016). Isto nos força a encontrar substitutos para os combustíveis fósseis por fontes renováveis limpas, como os biocombustíveis que têm atraído muita atenção e se tornado necessário no mercado global de combustíveis.

O biodiesel é considerado a principal alternativa para os combustíveis fósseis e recentemente está recebendo muita atenção do mundo todo. Ele é definido como o éster metílico de ácido graxo derivado da reação de transesterificação de óleos renováveis usando álcool e um ácido ou base como catalizador. O biodiesel pode ser produzido a partir de óleos vegetais, gorduras animais, óleo de cozinha usados ou lipídios de microalgas (ABOMOHRA *et al.*, 2016).

Além de sabermos que o biodiesel é um combustível renovável, a adoção desse produto tem várias vantagens. A substituição do biodiesel por petróleo resulta em grande redução na emissão de fuligem, enxofre e hidrocarbonetos não queimados. Adicionalmente, pelo fato do biodiesel ser derivado da biomassa, ele não contribui com a emissão de CO₂ na atmosfera (ABOMOHRA *et al.*, 2016). O biodiesel pode ser usado em motores a diesel já existentes, misturados com diesel de petróleo ou pode ser usado puro em motores com pequenas mudanças para uma melhor performance; tem propriedades lubrificantes que podem melhorar a vida útil de motores porque apresenta o dobro de viscosidade em relação ao diesel de petróleo; é altamente biodegradável e, portanto, apresenta uma menor toxicidade (ABOMOHRA *et al.*, 2016).

Muitas pesquisas descrevem as vantagens da produção de biodiesel a partir de microalgas em comparação com outras matérias primas. Do ponto de vista prático, as microalgas são fáceis de cultivar usando águas que são inapropriadas para o consumo humano, como águas marinhas, além de esgotos municipais e efluentes industriais. As microalgas são também caracterizadas pela alta produtividade de lipídios e alta taxa de crescimento, comparando-se com o cultivo de vegetais, conseqüentemente, elas requerem menor área para cultivo do que outras matérias primas agrícolas (ABOMOHRA *et al.*, 2016).

2. OBJETIVO

O objetivo desse trabalho é realizar um levantamento bibliográfico abordando as principais aplicações de microalgas, com ênfase no cultivo das mesmas para a produção de biodiesel.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Histórico

Apesar de existirem alguns relatos do uso de microalgas e cianobactérias como fonte alternativa de alimento pelos chineses a cerca de 2000 anos atrás, somente nos últimos 50 anos tem ocorrido a exploração comercial de microalgas. Inicialmente voltada para produção de biomassa como fonte de proteínas, também há a análise sistemática de algas para a obtenção de compostos bioativos e de produtos farmacêuticos (HARWOOD; GUSCHINA, 2009 apud LEMOS, 2012).

De 1978 a 1996, o Escritório de Desenvolvimento de Combustíveis do Departamento de Energia Norte-Americano financiou o *Aquatic Species Program* (ASP) para desenvolver combustíveis de transporte renováveis a partir de microalgas (FRANCO *et al.*, 2013). O foco principal do programa foi a produção de biodiesel a partir de microalgas com alto teor de lipídeos, cultivadas em tanques, utilizando CO₂ residual. Ao longo de quase duas décadas deste programa, foram feitos grandes avanços na técnica de manipulação do metabolismo de microalgas e na engenharia de sistemas de produção das mesmas (FRANCO *et al.*, 2013). No Japão foi desenvolvido um programa com objetivo semelhante pelo *Research Institute of Innovative Technology* (RITE), porém substituindo o sistema aberto pelo cultivo em fotobiorreatores, mais intensivo, com maiores possibilidades de controle e uma maior produtividade de biomassa por área quando comparado ao sistema aberto (FRANCO *et al.*, 2013).

No Brasil, o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), em parceria com a Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP/PR), lançou em 2008, através do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), edital de pesquisa com o objetivo de selecionar projetos voltados para a aquicultura e uso de microalgas para a produção de biodiesel, no valor total de R\$ 4,5 milhões. Outra ação do MCTI teve início em novembro

de 2010, com a aprovação do Projeto MCT/FINEP de “Produção de biodiesel derivado de óleos de microalgas”. Estes dados mostram que existem esforços em PD&I no Brasil, o que pode resultar em avanços significativos nesta temática a curto e médio prazos (FRANCO *et al.*, 2013). A empresa Petrobras lançou em 2012 uma planta piloto para cultivo de microalgas para produção de biodiesel. O empreendimento está sendo realizado juntamente com a Universidade Federal do Rio Grande do Norte, na cidade de Extremoz (RN). A iniciativa permitirá um avanço nas pesquisas sobre o potencial das microalgas como nova alternativa de suprimento para biodiesel, usando tanques abertos, como mostra a Figura 1.



Figura 1. Planta piloto para cultivo de microalgas pela Petrobras juntamente com a UFRN na cidade de Extremoz, RN. Fonte: Brasil Business Review, 2012. Disponível em: <<http://www.businessreviewbrasil.com.br/1%C3%ADderesempresariais/126/Cultivo-de-microalgas-para-biodiesel-inaugurado-no-RN>>.

O biodiesel foi inserido na matriz energética brasileira a partir da publicação da lei federal 11.097 de 13 de janeiro de 2005, que também fixa um percentual mínimo obrigatório de 7% v/v de biodiesel adicionado ao óleo diesel comercializado ao consumidor final, em qualquer parte do território nacional (Presidência da República, Casa Civil, 2005). A previsão é de aumento do percentual de biodiesel ao longo dos anos, chegando a 10% em 2019.

3.2. Microalgas

Microalga é um termo genérico que diz respeito a micro-organismos eucariotos e procariotos fotossintéticos, como algas verdes e cianobactérias que podem ser encontradas tanto na águas de mares, rios, lagos e solos. Devido ao fato de serem capazes de sintetizar macromoléculas de alto valor agregado utilizando apenas luz e nutrientes simples, removendo cerca de 50% do gás carbônico atmosférico e podendo remover certos contaminantes do meio, grande atenção tem sido dada ao potencial econômico e ambiental de microalgas nas últimas décadas. Em termos de abundância, as quatro mais importantes divisões de microalgas são Cyanophyta ou cianobactérias (algas verdes e azuis), dos gêneros *Chroococcus* sp. e *Oscillatoria* sp., por exemplo, são metabolicamente muito ativas e podem representar até 80% da produção primária de biomassa em ecossistemas costais (LELIAERT, 2012); Chlorophyta (algas verdes) nas espécies *Volvox carteri* e *Chlorella variabilis*, incluem a maior parte das espécies de algas verdes descritas; Bacillariophyta (diatomáceas), na espécie *Peridinium foliaceum*, por exemplo, possuem uma parede celular extremamente resistente a choques composta de sílica; e Cryophyta (algas douradas), por exemplo *Mallomonas caudata* (ABOMOHRA *et al.*, 2016). Entre as potenciais aplicações industriais atribuídas a esses micro-organismos destacam-se a produção de biocombustíveis, ração animal, tratamento de efluentes, produção de pigmentos naturais, adubo orgânico e biorremediação.

Geralmente, quando se fala em produção de biomassa, dada pela incorporação de CO₂, são citadas as plantas arbóreas e arbustivas e as culturas agrícolas, ou seja, somente os seres pertencentes ao Reino Plantae, esquecendo-se que as cianobactérias (Reino Monera) foram as grandes responsáveis pelo aumento do teor de O₂ na atmosfera e, também as algas (Reino Protista). O processo responsável pela incorporação de CO₂ é a fotossíntese, resultando em liberação de O₂ para a atmosfera e acúmulo de biomassa pelo ser autotrófico. Os oceanos e não as florestas são o verdadeiro pulmão do mundo. Isso se deve ao fato de nosso planeta possuir cerca de 67% de sua superfície recoberta com água, a qual é habitada por uma grande diversidade de seres planctônicos autotróficos chamados microalgas. As microalgas aquáticas são reconhecidas por apresentarem eficiência fotossintética superior às plantas C₄ (alta afinidade com o carbono), taxas de proliferação rápida, grande variedade de tolerância a ambientes extremos, além de apresentarem excelente adaptabilidade a cultivos intensivos, o que as torna eficazes na redução do CO₂ atmosférico (KURANO *et al.*, 1995 apud OHSE e DERNER, 2009). Dos organismos fotossintetizantes, as microalgas são muito mais eficientes

no uso do CO₂ que as plantas superiores, podendo fixar quantidades muito maiores de CO₂ por área de terra (OHSE e DERNER, 2009). Algumas dessas divisões de macroalgas e microalgas podem ser observadas na Figura 2.

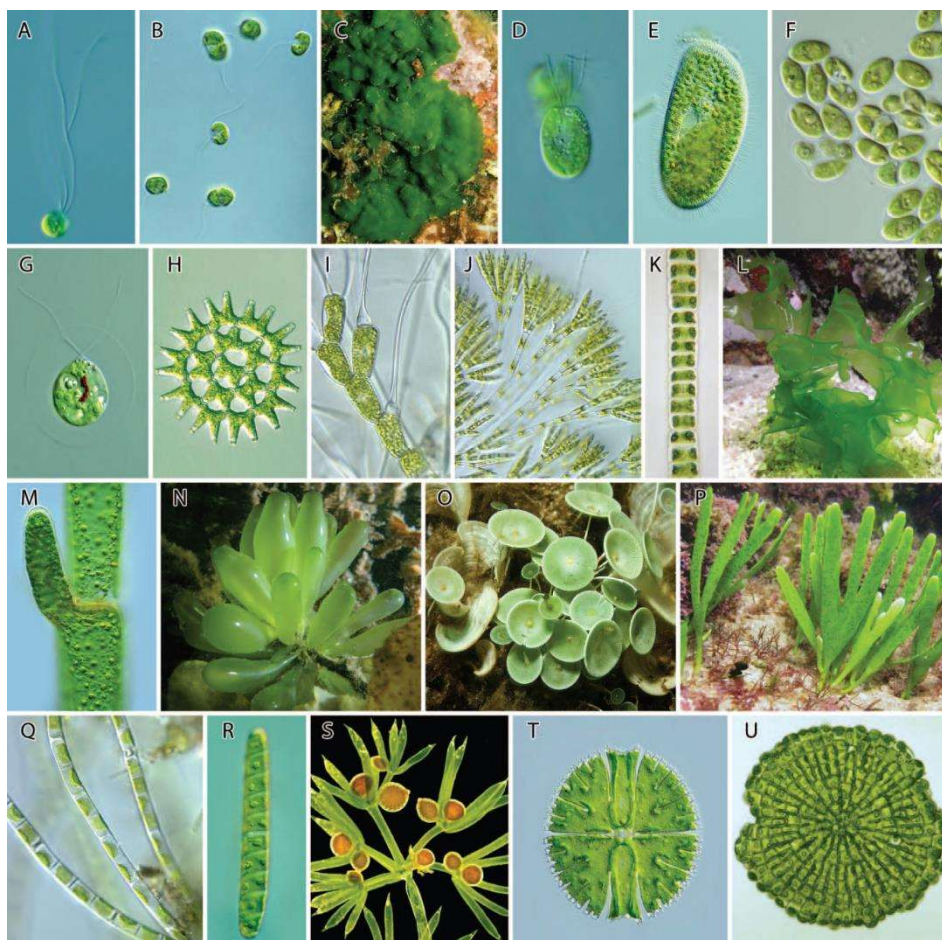


Figura 2. Diversidades de algas verdes. A) *Pterosperma*; B) *Nephroselmis*; C) *Palmophyllum*; D) *Tetraselmis*; E) *Chlorella*; F) *Oocystis*; G) *Haematococcus*; H) *Pediastrum*; I) *Bulbochaete*; J) *Chaetophora*; K) *Ulothrix*; L) *Ulva*; M) *Cladophora*; N) *Boergesenia*; O) *Acetabularia*; P) *Caulerpa*; Q) *Klebsormidium*; R) *Spirotaenia*; S) *Nitella*; T) *Micrasterias*; U) *Coleochaete* (LELIAERT, 2012)

As microalgas podem crescer autotroficamente utilizando luz e dióxido de carbono. Também podem ser cultivadas em sistema heterotrófico, utilizando compostos orgânicos como energia e fonte de carbono, ou, ainda, em sistema de cultivo mixotrófico (BECKER, 1994 e MULITERNO *et al.*, 2005 apud BAUMGARTNER, 2013). A vantagem associada aos cultivos heterotrófico e mixotrófico é a possibilidade de se aumentar a produtividade em biomassa e em lipídeo, o que motiva as pesquisas sobre o tema. No caso do cultivo autotrófico, um aspecto bastante positivo é o uso de CO₂ resultante de processos industriais, o que representa uma forma de mitigação das emissões de gases de efeito estufa, além da diminuição dos custos de produção

da biomassa microalgal (FRANCO *et al.*, 2013). A produção de biomassa de microalgas pode ser realizada em meios de cultura alternativos, entre os quais é possível destacar: esgoto doméstico, efluentes de biodigestores, lodo digerido, vinhaça de cana-de-açúcar, águas residuais da produção de azeite de oliva e resíduos da suinocultura. Estes organismos podem ser cultivados em diversos sistemas de produção, com volume variando desde poucos litros até bilhões de litros (BAUMGARTNER, 2013). As principais considerações para o desenvolvimento de um meio de cultura são: a concentração total de sal, fonte de carbono, um fornecimento suficiente de carbono, fonte de nitrogênio, concentração de outros elementos principais como potássio, fósforo, magnésio, sódio, sulfato, microelementos e a adição de componentes orgânicos e de substâncias que promovam o crescimento (BECKER, 1994 e LOURENÇO, 2006 apud BAUMGARTNER, 2013). Dos principais macronutrientes necessários para o crescimento de algas, o nitrogênio é importante, por ser constituinte de diversas substâncias do metabolismo primário, sendo que a abundância deste elemento no meio tende a aumentar as quantidades de proteínas e clorofilas nas células e sua carência, tende a diminuir as taxas de crescimento celular (BECKER, 2008 e LOURENÇO, 2006 apud BAUMGARTNER, 2013).

O rendimento da fotossíntese, em uma célula, depende de fatores internos e externos. Os principais fatores internos são a estrutura da célula, teor de clorofila, acúmulo de produtos fotossintéticos dentro dos cloroplastos, a influência de enzimas protoplasmáticas e a presença de constituintes minerais. Os fatores externos são a luminosidade nas células, a temperatura, concentrações de dióxido de carbono e oxigênio (HALL e RAO, 1980 apud LEMOS, 2012). A fotossíntese é composta pela fase clara e fase escura realizadas dentro dos cloroplastos, como mostra a Figura 3.

A fase clara ou fotoquímica é realizada somente na presença de luz e água nos tilacóides que contêm pigmentos que absorvem a luz e transferem elétrons e enzimas na etapa fotoquímica. Sob a ação da luz, a molécula de água é quebrada liberando O_2 , H^+ e elétrons, como mostra a equação 2 (MADIGAN *et al.*, 2010). Como mostra a equação 3, o NADP recebe os átomos de hidrogênio da água e reduz-se a $NADPH_2$, esta fase é chamada de fotólise da água. A molécula de $ADP + P$ sob a ação da luz, transforma-se em ATP, fase dita fotofosforilação. A fotofosforilação significa a adição de fosfato em presença de luz. A substância que sofre fosforilação, na fotossíntese, é o ADP, sendo formado em ATP. Nos cloroplastos as moléculas de clorofila, ao receber energia luminosa, ficam oxidadas, ou seja, perdem elétrons. Isso ocorre,

porque a energia luminosa excita os elétrons, que saem das moléculas. Uma vez produzido esse forte doador de elétrons, as etapas seguintes do fluxo de elétrons atuam simplesmente no sentido de conservar a energia liberada à medida que os elétrons são transportados através da membrana (MADIGAN *et al.*, 2010)

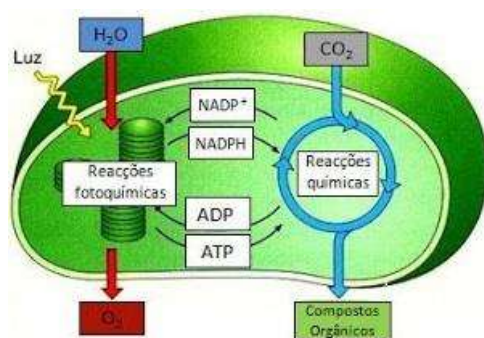
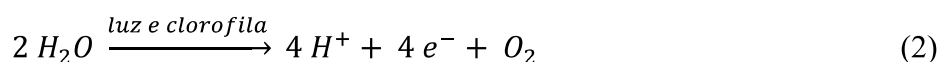
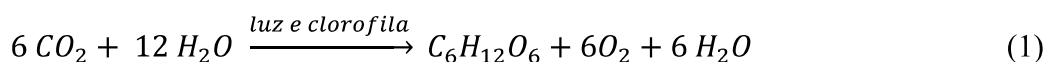


Figura 3. Ilustração do Cloroplasto, onde ocorre as fases fotoquímica (clara) e química (escura) da fotossíntese. Fonte: disponível em: <http://www.euquerobiologia.com.br/2011/12/fotossintese-primeira-fonte-de-energia.html>

A fase escura, conhecido como ciclo redutivo de pentose fosfato ou ciclo de Calvin, é a via metabólica da fixação do CO_2 e que conduz a incorporação do carbono em hexoses. O carbono se reduz para níveis de carboidratos e os produtos intermediários que participam da redução do carbono são pentoses fosforiladas (LEMOS, 2012). O ciclo de Calvin, ilustrado pela Figura 4, precisa de NADPH, ATP e duas enzimas chave, a ribulose bifosfato carboxilase (RubisCO) e a fosforribulosequinase. A primeira fase do ciclo de Calvin é catalisada pela RubisCO que catalisa a formação de duas moléculas de ácido 3-fosfoglicérico (PGA). O PGA é então fosforilado e reduzido a um intermediário chave da glicólise, o gliceraldeído 3-fosfato (PGAL). A partir dessa etapa, a glicose pode ser produzida a partir da reversão das etapas iniciais da glicólise (MADIGAN *et al.*, 2010).

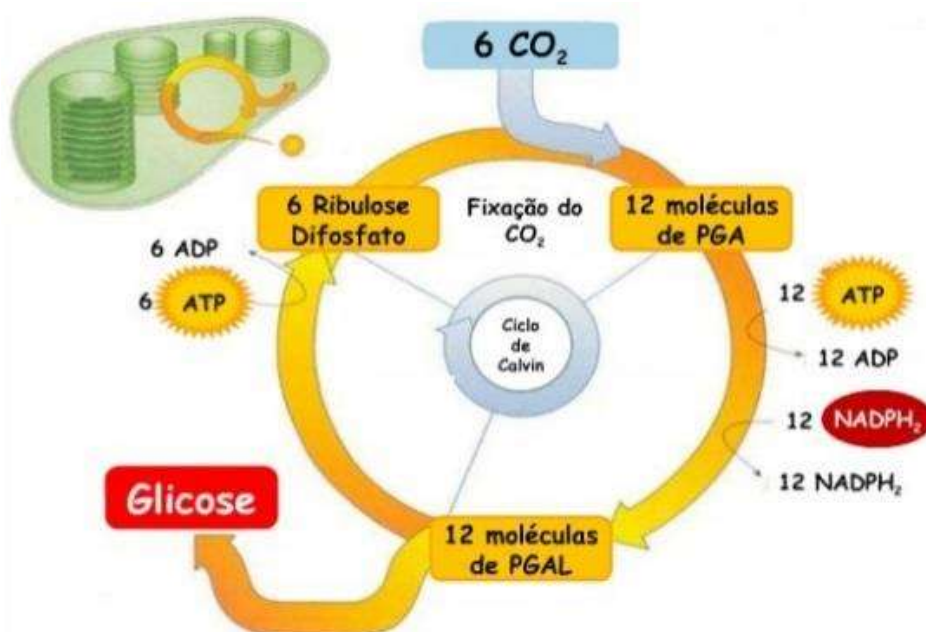


Figura 4. Ciclo de Calvin. Fonte: disponível em: <http://pt.slideshare.net/crisbio10/fotossintese-8979016>.

Entre os produtos metabólicos das microalgas se encontram proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos, vitaminas e lipídios (MALLICK *et al.*, 2012 e SPOLAORE *et al.*, 2006 apud LEMOS, 2012). O conteúdo de carbono na biomassa de microalgas fotossintetizantes representa aproximadamente 50% do seu peso seco (ABOMOHRA *et al.*, 2016). Todo o carbono é tipicamente derivado do dióxido de carbono fornecido durante a luz do dia. A produção de 100 toneladas de microalgas fixa, aproximadamente, 183 toneladas de dióxido de carbono (ABOMOHRA *et al.*, 2016). Além do carbono, as microalgas são grandes produtoras de proteínas, essencial para a alimentação. Um estudo feito por OHSE e DERNER (2009) nos fornece a Tabela 1, que mostra os percentuais de carbono, nitrogênio, hidrogênio e proteína contidos na biomassa seca de algumas espécies de microalgas cultivadas, nas quais quase todas são marinhas, sendo a *Chlorella vulgaris* a única de água doce. Neste experimento o teor de carbono é aproximadamente 10% maior que o teor de proteína. Já nos experimentos feitos por ARKRONRAT *et al.* (2016) a porcentagem de proteína é maior que a de carbono nas espécies marinhas *Nannochloropsis* sp. e *Tetraselmis* sp. Devido a essa variedade de produção, as microalgas veem sendo cada vez mais estudadas, possibilitando o aumento potencial da sua aplicação.

Tabela 1. Teores de carbono, nitrogênio, hidrogênio e proteína na biomassa seca das respectivas microalgas estudadas por OHSE e DERNER (2009).

Espécie	Carbono (%)	Nitrogênio (%)	Hidrogênio (%)	Proteína (%)
<i>Nannochloropsis oculata</i>	40,85	4,62	6,98	28,88
<i>Chaetoceros muelleri</i>	34,81	2,77	4,05	17,32
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	31,77	3,11	5,06	19,44
<i>Isochrysis galbana</i>	22,93	2,91	4,24	18,16
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	38,86	4,81	5,40	30,02
<i>Isochrysis</i> sp.	34,16	4,93	5,07	30,81
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	35,05	3,20	4,93	20,00
<i>Tetraselmis chuii</i>	36,84	6,65	6,58	41,54
<i>Tetraselmis suecica</i>	37,54	4,38	6,08	27,39
<i>Chlorella vulgaris</i>	39,09	5,30	5,85	33,15
Média geral	35,19	3,27	5,42	26,67

3.2.1. Fisiologia e morfologia

Segundo TOMASELLI (2004) citado por DERNER (2006), estes micro-organismos têm sido tradicionalmente classificados quanto aos tipos de pigmentos, a natureza química dos produtos de reserva e pelos constituintes da parede celular. Também têm sido considerados aspectos citológicos e morfológicos, tais como a ocorrência de células flageladas, a estrutura dos flagelos, os processos de formação do núcleo e da divisão celular, a presença e a caracterização de envoltório do(s) cloroplasto(s) e a possível conexão entre o retículo endoplasmático e a membrana nuclear.

Apesar das diferenças estruturais e morfológicas entre os representantes de cada divisão, esses são fisiologicamente similares e apresentam um metabolismo análogo àquele das plantas. São principalmente encontradas no meio marinho, em água doce e no solo, sendo consideradas responsáveis por pelo menos 60% da produção primária da Terra (CHISTI, 2004 apud DERNER, 2016).

Apesar de uma vasta biblioteca de espécies de microalgas, algumas são mais favoráveis e viáveis a comercialização, também sendo selecionadas por sua genética e engenharia metabólica (ROSENBERG *et al*, 2008). A manipulação das vias metabólicas pode redirecionar funções celulares a favor da síntese de produtos desejados.

Apesar do cloroplasto poder agir como uma fábrica de proteína e produção de hidrogênio, o núcleo desempenha um papel fundamental no controle metabólico. As duas organelas contêm genomas individuais, na qual oferecem a possibilidade de uma independente incorporação transgene (ROSENBERG *et al.*, 2008).

A composição da parede celular das microalgas pode influenciar os processos de recuperação de metabolitos usados comercialmente, pois para muitos propósitos, a célula de microalga deve ser rompida afim de extrair compostos desejados. Sua parede celular é similar à parede celular de plantas e pode conter celulose, hemicelulose, pectina e glicoproteína (FERNÁNDEZ *et al.*, 2012). As cianobactérias, como a *Spirulina*, apresentam uma membrana celular típica de bactérias gram-negativas, contendo uma delgada camada de peptideoglicano na parede celular. O gênero *Chlorella* possui parede celular trilaminar fosfolipídica, com presença de manose, quitina e polissacarídeos. A *Scenedesmus* possui parede celular rigorosa baseada em polissacarídeos, açúcares, incluindo glicose, manose e galactose, enquanto na *Chlorella* pode estar presente a glucosamina ao invés de glicose (FERNÁNDEZ *et al.*, 2012).

3.2.2. Plantas versus Microalgas na produção de bioprodutos

Muitas das substâncias sintetizadas e acumuladas pelas microalgas são também encontradas nas plantas, as quais evoluíram das algas verdes ou clorófitas (RAVEN *et al.*, 2001 apud OHSE e DERNER, 2009). Entretanto, segundo COHEN (1986) e RICHMOND (1990) citado por OHSE e DERNER (2009), a produção de microalgas pode ser justificada por apresentar diversas vantagens, dentre as quais podem ser destacadas: o cultivo de microalgas é um sistema biológico eficiente na utilização da energia solar para a produção de matéria orgânica, sendo que, muitas espécies crescem mais rapidamente do que as plantas terrestres, fato que possibilita maiores rendimentos anuais de biomassa (maior produtividade); sua natureza unicelular assegura uma biomassa com mesma composição bioquímica, o que não ocorre com as plantas terrestres que apresentam compostos localizados em partes específicas como nos frutos, folhas, sementes ou raízes; por manipulação das condições ambientais de cultivo (luz, temperatura e nutrientes, por exemplo) muitas espécies podem ser induzidas a sintetizar e acumular altas concentrações de proteínas, carboidratos, lipídios etc. Tais compostos apresentam um elevado valor comercial, principalmente por serem produtos naturais; e podem crescer bem em regiões com diferentes condições climáticas. Além do mais, dos organismos fotossintetizantes, as microalgas são muito mais eficientes no uso do CO₂ que as plantas superiores, podendo fixar

quantidades muito maiores de CO₂ por área de terra. Assim, máximas produtividades de plantas superiores e árvores estão restritas a áreas com solo, água e clima favoráveis.

Os cultivos podem ser desenvolvidos em água marinha ou de estuários, a qual não pode ser convencionalmente empregada no cultivo de plantas com valor para a agricultura, ou com água proveniente de diversos outros processos de produção (agropecuária, indústrias, dejetos domésticos, etc.); o ciclo de vida da maioria das microalgas se completa em poucas horas, o que favorece a seleção de cepas e o melhoramento genético das espécies (DERNER, 2006).

3.2.3. Fatores que influenciam no metabolismo das microalgas

Independentemente do tipo de cultivo das microalgas, sendo este em tanques abertos ou em fotobiorreatores, vários fatores influenciam na produtividade destes micro-organismos. Esses fatores limitam o rendimento da fotossíntese e somente alguns destes podem ser controlados, como variação de temperatura, luminosidade, aeração e concentração de nutrientes do meio. A alteração destes fatores pode alterar a taxa de crescimento das microalgas ou até mesmo levar a células à morte. Para os sistemas abertos, como representam o ambiente natural, podem ser controlados apenas a concentração de nutrientes e a aeração, já em laboratórios e fotobiorreatores, a temperatura e luminosidade também podem ser controladas (LEMONS, 2012).

3.2.3.1. Iluminação

A iluminação é um fator muito importante, pois a condição ótima de crescimento das microalgas depende da intensidade da luz, do comprimento de onda e duração de exposição, que varia a cada espécie de microalga, volume e densidade do cultivo. Em cultivos de pequena escala é recomendável o uso de luz artificial, pois podem ser controladas de acordo com a necessidade de cada cultura. As lâmpadas mais usadas são as fluorescentes com comprimentos de onda de 350 a 700 nm, necessários para a fotossíntese, durante um fotoperíodo de 10 a 12 horas, intercalando também o período escuro. Apesar de muitas espécies crescerem sob uma boa taxa com iluminação contínua, um cultivo com fotoperíodo favorece a sincronização do cultivo, o que é recomendado para estudos fisiológicos e a divisão celular de muitas espécies ocorre em períodos de escuro (SCHMIDT, 2006).

3.2.3.2. Temperatura

A temperatura é um dos fatores que mais afeta a taxa metabólica dos organismos e varia de espécie para espécie. Temperaturas constantes são desejáveis, pois proporcionam mais estabilidade nos experimentos e nas operações de rotina, permitindo maior reprodutibilidade e uma resposta previsível das espécies, podendo ser alcançadas e controladas por meio de refrigeração (LEMOS, 2012). Para manter cultivos é recomendado uma temperatura em torno de 18 a 22°C, visto que afim de diminuir a frequência de renovação de cultivos, são usadas temperaturas menores e para fins de reprodução de cultivos se mantém temperaturas mais altas que aceleram a taxa de crescimento, de acordo com a tolerância de cada espécie (SCHMIDT, 2006).

3.2.3.3. Aeração e agitação

A aeração está ligada à demanda de carbono no cultivo, pois não há adição de fonte de carbono em alguns meios de cultivo. A aeração também promove a agitação e a consequente homogeneização do meio. Em volumes pequenos de cultivo de até 500 mL, a agitação manual diária pode ser suficiente, para volumes maiores a agitação pode ser promovida por injeção de CO₂ ou ar comprimido. O ar atmosférico comprimido deve passar por filtros antes de ser injetado no meio de cultivo, a fim de diminuir a carga de bactérias e outras partículas, evitando a contaminação (SCHMIDT, 2006). O uso de CO₂ deve ser controlado devido as diferentes concentrações necessárias em casa tipo de cultivo, como de microalgas marinhas e de água doce, para não prejudicar a taxa de crescimento de cada uma (LEMOS, 2012).

3.2.3.4. pH

O pH do meio de cultivo determina a solubilidade de CO₂ e de minerais, assim como a distribuição relativa de formas inorgânicas de carbono, influenciando diretamente no metabolismo das microalgas (PATRICK, 1968 apud SCHMIDT, 2006). Assim, o pH deve ser quase neutro para que os componentes do meio possam ser efetivamente absorvidos pelas microalgas. O crescimento da microalga envolve o consumo de CO₂ dissolvido no meio, o que eleva o pH, assim como a falta deste reduz o pH e inibe o crescimento de algumas espécies de microalgas (LEMOS, 2012). Uma forma de regular as variações de pH é a aeração dos cultivos,

com bombeamento de ar atmosférico (0,03% de CO₂) ou com ar enriquecido de CO₂, em concentração ideal para a espécie cultivada (LOURENÇO, 2006 apud LEMOS, 2012).

3.2.3.5. Nutrientes

O carbono, por ser o componente mais importante de todas as substâncias orgânicas sintetizadas pelas células (proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos, vitaminas, lipídios, entre outros), é o elemento necessário em maiores concentrações para as algas, a proporção do consumo de carbono, nitrogênio e fósforo é de 106:16:1, para algas marinhas (LEMOS, 2012). Dependendo da velocidade de crescimento das microalgas, pode ocorrer um rápido consumo de carbono, tornando-se um fator limitante da multiplicação celular, além da significativa elevação do pH do cultivo para valores superiores a 9, caso o meio de cultivo não seja tamponado (LOURENÇO, 2006 apud LEMOS, 2012).

O nitrogênio apresenta grande importância para o desenvolvimento das microalgas por ser constituinte de diversas substâncias do metabolismo primário. As concentrações de proteínas, carotenóides e clorofila nas células aumentam a suficiente disponibilidade de nitrogênio no meio e diminuem quando o nitrogênio se torna limitante (LEMOS, 2012). Porém, a escassez de nitrogênio no meio de cultivo pode aumentar o conteúdo lipídico, direcionando o metabolismo da microalga à produção de componentes de reserva energética.

O fósforo tem importantes funções na célula, participa de todos os processos de trocas energéticas e na constituição de moléculas estruturais. Os principais componentes estruturais que apresentam fósforo em microalgas são ATP, açúcares fosfatados, ácidos nucleicos e fosfoenzimas. A assimilação do fósforo é dependente de luz, possivelmente em razão da acumulação de energia em ATP. A deficiência de fósforo no meio, afeta o perfil lipídico da célula, como o fósforo faz parte dos fosfolipídios, uma limitação deste nutriente direciona o metabolismo da microalga para a produção de triglicerídeos saturados e lipídios neutros, e ainda causa uma diminuição de ácidos graxos polinsaturados (SIRON *et al.*, 1989 apud LEMOS, 2012).

O ferro é extremamente importante para algas por participar de inúmeras funções como, vias biossintéticas da clorofila e dos citocromos, respiração – transporte respiratório de elétrons,

fotossíntese – transporte fotossintético de elétrons, redução de nitrato e de nitrito, redução de sulfato, fixação de nitrogênio molecular, detoxicação de espécies reativas de oxigênio e, além destes, é cofator de diversas enzimas (LOURENÇO, 2006 apud LEMOS, 2012). A limitação de ferro no meio pode limitar o crescimento, e alterar a concentração de clorofila. A concentração de ferro do ambiente apresenta relação direta com o conteúdo lipídico de microalga, a suplementação de ferro no início do cultivo aumenta o crescimento celular e estimula a produção de lipídios neutros, até 56,6% quando comparado com um cultivo sem suplementação de ferro (LIU *et al.*, 2008 apud LEMOS, 2012).

4. APLICAÇÕES

As microalgas têm ganhado seu espaço no mercado sendo comercialmente utilizadas. Cultivos de microalgas têm sido realizados visando a produção de biomassa para a elaboração de alimentos e para a extração de compostos naturais com alto valor no mercado mundial. Dentre os inúmeros compostos extraídos, ou com potencial de exploração comercial, podem ser relacionados ácidos graxos poli-insaturados, carotenóides, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e diversos compostos bioativos naturais (antioxidantes, redutores do colesterol etc.), os quais podem ser empregados especialmente no desenvolvimento de alimentos funcionais, por suas propriedades nutricionais e farmacêuticas (DERNER, 2006).

Além das microalgas serem usadas como nutriente na alimentação de animais e humanos, estas podem ser empregadas no tratamento de águas residuais de inúmeros processos industriais na detoxificação biológica e remoção de metais pesados. Também podem ser usadas como bioindicadores na detecção de nutrientes (para as microalgas) e substâncias tóxicas (detergentes, efluentes industriais, herbicidas etc.). Na agricultura, a biomassa pode ser empregada como biofertilizante do solo. Além de sintetizar toxinas, as microalgas podem produzir uma gama de moléculas bioativas com propriedades antibióticas, anticâncer, anti-inflamatórias, antivirais, redutoras do colesterol, enzimáticas e com outras atividades farmacológicas. Além disso, podem ser usadas na mitigação do efeito estufa, pela assimilação do CO₂, resultado do processo de queima dos combustíveis fósseis e de práticas agrícolas impróprias (as queimadas, por exemplo). Ainda, possibilitam produção de biocombustíveis, como o biodiesel. Por fim as microalgas são úteis na produção de hidrogênio livre, por biofotólise na elaboração de um inseticida natural, pela recombinação de uma sequência do

DNA da bactéria *Bacillus thuringiensis* no genoma de uma espécie de microalga, consumida pelo mosquito da malária em sua forma larval (DERNER, 2006).

Várias espécies são cultivadas comercialmente em alguns países e a biomassa produzida tem sido utilizada como fonte de produtos para aplicação na indústria de alimentos. Segundo PULZ e GROSS (2004), o mercado de alimentos funcionais, utilizando microalgas em massas, pães, iogurtes e bebidas, apresenta rápido desenvolvimento em países como França, Estados Unidos, China e Tailândia. As principais microalgas cultivadas comercialmente são espécies dos gêneros *Chlorella*, (clorofícea) e *Arthrospira* (cianofícea) para a adição em alimentos naturais, *Dunaliella salina* (clorofícea) para a obtenção de betacaroteno e *Haematococcus pluvialis* (clorofícea) para a obtenção de astaxantina (BECKER, 2004 apud DERNER, 2006).

A aplicação mais comum tem sido na aquicultura, para a alimentação direta ou indireta de algumas espécies de peixes, moluscos, crustáceos e de diversos organismos forrageiros de interesse econômico. Atualmente, são comercializadas como alimento natural ou suplemento alimentar e são encontradas formulações em pó, tabletes, cápsulas ou extratos (BECKER, 2004; COLLA *et al.*, 2004; PULZ e GROSS, 2004 apud DERNER, 2006).

4.1. Farmacêutica e cosmética

Os principais compostos produzidos em escala comercial são os carotenoides (betacaroteno e astaxantina) e alguns ácidos graxos poli-insaturados, na qual pertencem os ácidos graxos ômega 3 e ômega 6. Quanto aos carotenoides, pesquisas clínicas citadas no site “Aplicação biotecnológica das microalgas” tem demonstrado sua ação na prevenção de doenças degenerativas, combatendo radicais livres e funcionando como agentes anticâncer e estimuladores do sistema imunológico. Quanto aos ácidos graxos poli-insaturados, diversos estudos clínicos demonstram sua significância terapêutica na dieta humana, particularmente em relação a uma série de doenças cardiovasculares, doenças inflamatórias, desenvolvimento neural, trombose, câncer e melhora na imunidade.

Algumas espécies de microalgas como *Arthrospira* e *Chlorella* são utilizadas na indústria cosmética para o cuidado da pele, como cremes anti-idade, produtos refrescantes ou regenerantes da pele, hidratantes e anti-irritantes. Extratos ricos em proteínas de *Arthrospira* reparam os sinais prematuros de envelhecimento da pele, exercem um efeito tensor e previnem

a formação de estrias. O extrato de *C. vulgaris* estimulam a síntese de colágeno, apoiando a regeneração de tecidos e a redução de rugas, enquanto que *Nannochloropsis oculata* possui excelentes propriedades para o enrijecimento da pele (SPOLAORE *et al.* 2006 apud PEREZ; LABBE, 2014).

4.2. Tratamento de agua

A busca por melhores condições ambientais tem exigido das unidades produtoras de águas residuais a adoção de políticas ambientais que prevejam, entre outros fatores, a instalação de sistemas de tratamento, sejam eles físicos, químicos ou biológicos. O tratamento biológico de águas residuais vem sendo bastante utilizado e consiste na remoção de nutrientes, sólidos em suspensão, material carbonáceo e organismos patogênicos (MUELLER *et al.*, 1995 apud MARONEZE, 2014). O esgoto sanitário possui em sua composição nitrogênio e fósforo, compostos que causam a eutrofização de lagos. A eutrofização dos corpos hídricos é o excesso de nutrientes que causa crescimento descontrolado de algas e impactos sobre a biota local, podendo causar a morte de alguns organismos (MOTA e VON SPERLING, 2009 apud SILVA, 2014).

A importância de introduzir o cultivo de microalgas no tratamento de águas residuais é que elas necessitam de compostos orgânicos em sua nutrição, favorecendo a redução dos compostos de nitrogênio e fósforo, além de realizar a biorremoção de metais pesados. O crescimento de microalgas heterotroficamente consome fósforo como um elemento essencial requerido na constituição celular de fosfolipídeos, nucleotídeos e ácidos nucléicos (VIEIRA, 2012). Com isso, as microalgas reduzem as concentrações desses nutrientes nas águas residuais, prevenindo a eutrofização de corpos aquáticos (MORAIS, 2011 apud MARONEZE, 2014).

Além disso, as microalgas têm sido testadas para tratamento de águas providas da indústria de petróleo, chamada de água produzida ou água de formação, extraída juntamente com o petróleo. Essa água tem grandes concentrações de impurezas tais como sais inorgânicos, hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, fenóis, metais e também elementos utilizados na separação de água e óleo na linha de produção (ARRIADA, 2014). Contendo alta concentração de nitrogênio e fósforo, esse efluente pode ser usado no crescimento de microalgas, reduzindo os custos e impactos ambientais causados por este efluente da indústria de petróleo.

4.3. Alimentícia

4.3.1. Ácidos graxos poli-insaturados

Uma grande importância tem sido dada à provisão das fontes de ácidos graxos poli-insaturados. Isto é devido às mudanças na dieta humana, nos últimos séculos, e ao acentuado aparecimento de uma série de doenças relacionadas ao baixo consumo destes compostos, bem como a sua reconhecida significância terapêutica, especialmente àqueles da família Ômega-3 (SIMOPOULOS, 2002 apud DERNER, 2006). Os ácidos graxos podem ser obtidos de fontes animais ou vegetais, tanto terrestres quanto aquáticas, e diversos micro-organismos têm sido considerados como uma alternativa às fontes usuais desta classe de lipídios (CERTIK e SHIMIZU, 1999 apud DERNER, 2006).

O conteúdo de lipídios da biomassa microalgal pode variar entre 1 a 40% do peso seco e, em certas condições de cultivo, pode alcançar até 85% (BECKER, 2004 apud DERNER, 2006). Os lipídios de algas são tipicamente compostos por glicerol, açúcares ou bases esterificadas e ácidos graxos contendo entre 12 e 22 carbonos, podendo ser tanto saturados quanto mono ou poli-insaturados. Os ácidos graxos correspondem à maior fração dos lipídios e, em algumas espécies, os PUFA (“polyunsaturated fatty acids”) representam entre 25 e 60% dos lipídios totais (BECKER, 1988; BROWN, 1991; BECKER, 2004 apud DERNER, 2006). Os lipídios de algumas espécies (quase sempre marinhas) contêm quantidades relativamente altas de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, notadamente de EPA e DHA (VOLKMAN *et al.*, 1989; ZHUKOVA e AIZDAICHER, 1995; ROBLES MEDINA *et al.*, 1998 apud DERNER, 2006).

A ênfase dada aos ácidos graxos poli-insaturados dá-se ao fato do organismo humano não poder sintetizá-los. Os benefícios à saúde humana têm sido atribuídos ao consumo de peixes, entretanto, existem evidências indicando que os ácidos graxos poli-insaturados encontrados nos óleos de peixe provem da ingestão indireta ou direta de microalgas, como mostra a Figura 5, as quais constituem o primeiro nível da maioria das cadeias tróficas aquáticas, pelo disposto, as microalgas têm sido cultivadas para a extração destes compostos, especialmente aqueles da família de ômega 3 (ROBLES MEDIDA *et al.*, 1998).



Figura 5. Formas direta e indireta de ingestão de ômega 3 a partir de microalgas. Fonte: adaptado de: <http://cellana.com/products/renew-omega-3/>

4.2.2. Caroteno, betacaroteno e astaxantina

Semelhantemente ao que ocorre em outros organismos, cada classe de microalgas apresenta sua própria combinação de pigmentos e, conseqüentemente, coloração distinta. Os três principais grupos de pigmentos encontrados na biomassa microalgal são as clorofilas, os carotenoides e as ficobilinas (ficobiliproteínas) (ABALDE *et al.*, 1995 apud DERNER, 2006). Segundo BOROWITZKA (1993) citado por DERNER (2006), é possível incrementar a síntese destes compostos através da manipulação das condições de cultivo, usualmente por algum estresse ambiental.

Os carotenoides, pigmentos de grande interesse comercial, funcionam como fotoprotetores e como pigmentos fotossintéticos secundários, sendo que cada espécie pode conter entre 5 e 10 tipos de um universo de aproximadamente 60 diferentes carotenoides presentes nas células microalgais. Diversas espécies podem acumular grande concentração de betacaroteno, astaxantina ou cantaxantina, por exemplo, os quais têm uma ampla aplicação como corantes naturais e como antioxidantes (BAKER e GUNTER, 2004; PULZ e GROSS, 2004 apud DERNER, 2006).

O betacaroteno é um pigmento tipicamente encontrado nas microalgas, bem como nas macroalgas e nas plantas. Geralmente é encontrado numa fração inferior a 1% da massa seca, mas pode ser acumulado até aproximadamente 10% em espécies halotolerantes (crescem em elevada concentração de sal), como naquelas do gênero *Dunaliella* (ABALDE *et al.*, 1995). Este composto, extraído da biomassa microalgal, vem sendo aplicado comercialmente como

corante natural, podendo atuar como pró-vitamina A, produto antioxidante e contra doenças degenerativas como o câncer (EDGE *et al.*, 1997; BEN-AMOTZ, 2004 apud DERNER, 2006).

A espécie *Haematococcus pluvialis* tem sido cultivada comercialmente devido a sua capacidade de acumular astaxantina sob condições de estresse ambiental como deficiência de nitrogênio e elevada intensidade luminosa (CORDERO-ESQUIVEL *et al.*, 1996 apud DERNER, 2006). Segundo BOROWITZKA e BOROWITZA (1988) citado por DERNER (2006), *H. pluvialis* pode conter entre 1,5 e 3% de astaxantina na biomassa seca. No mercado, são encontrados produtos na forma de concentrados em pó, liofilizados ou biomassa desidratada, bem como extrato em óleo vegetal. O maior mercado para a astaxantina tem sido a aquicultura, onde é especialmente empregada para dar a cor avermelhada à carne do salmão cultivado. A astaxantina natural é vendida por aproximadamente US\$ 2.500,00 o quilograma, sendo que 95% do consumo mundial da aquicultura são abastecidos com astaxantina sintética. Como existe em nível mundial uma crescente procura por produtos naturais, as empresas produtoras de astaxantina (extraída das microalgas) percebem isso como uma grande oportunidade comercial (MARGALITH, 1999 apud DERNER, 2006).

A mudança morfológica da *H. pluvialis*, ilustrada pela Figura 6, de células verdes a vermelhas e produção de astaxantina, ocorre devido às alterações de alguns fatores, como a aplicação de temperatura alta, deficiência de nutrientes (nitrato, magnésio, sulfato e fosfato), alta intensidade de luz, alta salinidade e estresse oxidativo.

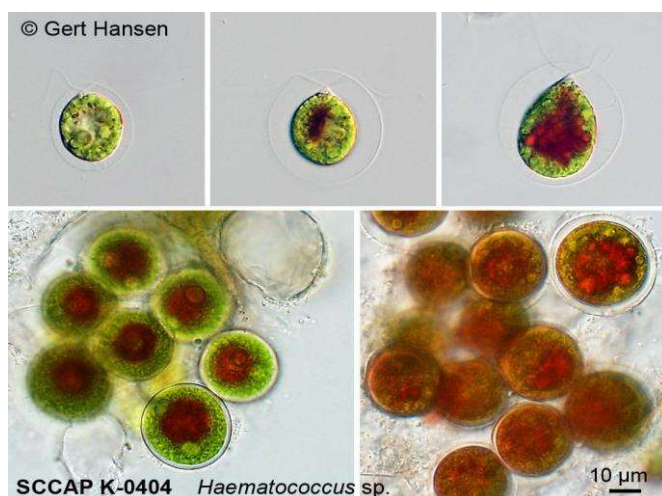


Figura 6. Micrografia da *Haematococcus pluvialis*, desde célula verde até o início de produção de astaxantina, tornando a célula avermelhada. Fonte: disponível em: http://nordicmicroalgae.org/taxon/Haematococcus?media_id=Haematococcus_1.jpg

4.4. Produção de energia

4.4.1. Biogás

O biogás é produzido através da digestão anaeróbica da matéria orgânica. Somente alguns estudos têm sido publicados em relação ao uso de microalgas na geração de biogás, quando comparado à produção de biodiesel. De fato, a digestão anaeróbica é um processo mais direto de produção de energia, onde não há a necessidade de processos laboriosos que ocorrem na produção de biodiesel, além de usar muitos componentes macromoleculares como substrato. A vantagem da digestão anaeróbica por microalgas implica em menor complexidade de processos enquanto produz energia juntamente com digestão mineralizada contendo valiosos nutrientes (FERNÁNDEZ *et al.*, 2012).

No contexto de produção de bioenergia com microalgas foi sugerido que a biomassa residual, provindas de outros processos e já usadas na extração de algum metabólito, deveria ser convertida a biogás via fermentação anaeróbica por bactérias (MUSSGNUG, 2010). Uma vez que as microalgas são provenientes de algum processo, estas não possuem alta taxa metabólica, podendo estar na fase de declínio. Por isso, o grau de degradação celular das microalgas é crucial para a eficiente conversão da biomassa em biogás (MUSSGNUG, 2010). Consequentemente, foi investigado que a desintegração celular é totalmente dependente da estrutura e composição da parede celular desses micro-organismos, afetando a produção de biogás (MUSSGNUG, 2010).

Os resultados obtidos por MUSSGNUG (2010) indicaram que algumas espécies de microalgas podem ser bons substratos para fermentação anaeróbica, resultando na produção de biogás com, relativamente, alto conteúdo de metano. A presença ou ausência de biopolímeros na parede celular das microalgas influencia na eficiência de todo o processo de digestão. Ataques hidrolíticos das bactérias na digestão é fortemente afetada pela estrutura da parede celular e composição das microalgas. A desintegração da parede celular é crucial para uma eficiente produção de metano (FERNÁNDEZ *et al.*, 2012).

4.4.2. Biodiesel

Microalgas tem atraído atenção como fonte de energia renovável devido ao rápido crescimento de sua biomassa e o potencial de sintetizar ácidos graxos adequados à produção de biodiesel comparado com plantas oleaginosas. A quantidade de óleo produzida pela microalga fica entre 10 e 50% de sua massa seca, entretanto, algumas espécies de microalgas podem alcançar um percentual maior que 80% sob certas condições de cultivo (VALDEZ-OJEDA, 2015).

O interesse em substituir os combustíveis de origens fósseis por biodiesel vem aumentando, pois este apresenta vantagens técnicas sobre o diesel como: menor ponto de fulgor, redução do lançamento de enxofre e monóxido de carbono, não contém hidrocarbonetos aromáticos e outras substâncias químicas prejudiciais à saúde e ao ambiente, é renovável e biodegradável, podendo ser obtido de forma sustentável (BELTRÃO e OLIVEIRA, 2008; HUANG *et al.*, 2010 apud LEMOS, 2012).

O biodiesel é constituído por lipídios, moléculas biológicas que são solúveis em solventes orgânicos. Os ácidos graxos, que são o maior constituinte de lipídios neutros e polares, podem ser saturados, monoinsaturados e poli-insaturados (LEMOS, 2012). A molécula de ácido graxo consiste em um grupo hidrofílico carboxilado (COOH) no fim de uma cadeia de hidrocarbonetos hidrofóbicos e são classificados com base em duas características: o número de átomos de carbono na cadeia de hidrocarbonetos e o número de duplas ligações ao longo dessa cadeia (HALIM *et al.*, 2012). Ácidos graxos saturados não apresentam duplas ligações, enquanto que os ácidos graxos insaturados são constituídos de pelo menos uma dupla ligação (NELSON e COX, 2000 apud HALIM *et al.*, 2012). Entre os ácidos graxos, ilustrados pela Figura 7, aqueles mais encontrados no biodiesel são ácidos palmítico, esteárico, oleico e linoleico, com diferentes saturações (KNOTHE, 2008 apud LEE *et al.*, 2010).

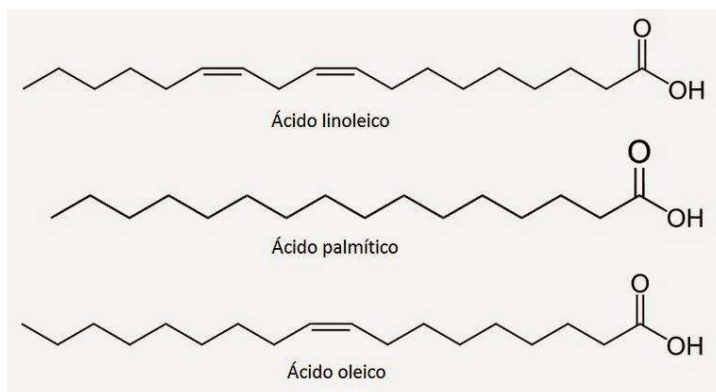


Figura 7. Diferentes ácidos graxos encontrados no biodiesel. Fonte: disponível em: <http://elceluloidedeavogadro.blogspot.com.br/2015/02/las-bondades-del-aceite-de-argan.html>

O biodiesel é produzido tipicamente, através da reação de um ácido graxo derivado de fontes biológicas, óleos vegetais processados, ou não, e gorduras animais (DEMIRBAS, 2008 apud LEMOS, 2012). Existem algumas rotas tecnológicas de produção do biodiesel, como o craqueamento, a esterificação e a transesterificação. O craqueamento ou pirólise ocorre em temperatura acima de 350 °C, utilizando ou não um catalisador, em que a quebra das moléculas dos triglicerídeos leva à formação de uma mistura de hidrocarbonetos e compostos oxigenados lineares ou cíclicos (SUAREZ *et al.*, 2007 apud ALVARENGA e SOARES, 2010). A esterificação é uma reação de ésteres através de ácidos graxos e álcool, utilizando catalisadores ácidos, básicos ou enzimáticos. A transesterificação é o processo mais utilizado atualmente para a produção do biodiesel, e consiste numa reação química dos óleos vegetais ou gorduras animais com um álcool de cadeia curta, em presença de um catalisador. O catalisador da reação pode ser homogêneo ou heterogêneo, ácido e básico ou enzimático. Os álcoois mais utilizados são o etanol e o metanol. O metanol é mais empregado, por não possuir água em sua composição, o que facilita a separação entre os ésteres e a glicerina (FELIZARDO, 2003 apud ALVARENGA e SOARES, 2010). O subproduto glicerina, também produzido pela transesterificação, pode ser convertido em diversos produtos químicos usados na fabricação de cosméticos, alimentos e produtos farmacêuticos, além de servir de substrato na fermentação para produzir biogás ou bioetanol (PINTO, 2013).

Os lipídios provenientes das microalgas variam consideravelmente em diferentes espécies, podendo-se observar essa diferença em destaque na Tabela 2. A divisão Chlorophyta representa o maior grupo taxonômico na qual as algas oleaginosas têm sido identificadas (ABOMOHR *et al.*, 2016). O comportamento das microalgas e a composição de ácidos graxos dos lipídios

de espécies particulares varia de 12 a 22 carbonos no comprimento e é afetada pelas condições de cultivo das células, como composição do meio, temperatura, metabolismo, intensidade de iluminação, taxa de aeração. A biomassa de microalga pode acumular lipídios com capacidade celular de produzir 100 vezes mais óleo por acre do que plantas terrestres.

O conteúdo de óleo por porcentagem de biomassa seca da Tabela 2 informa a quantidade de óleo que a biomassa de cada espécie contém. Já a produtividade do óleo é a capacidade que cada espécie de microalga tem para a produção de óleo em dias. Os dois parâmetros são importantes, em conjunto, e devem ser analisados para a escolha da microalga a ser usada na extração de lipídios.

Tabela 2. Conteúdo e produtividade de óleo de algumas espécies de microalgas (FRANCO *et al.*, 2013).

Espécies de microalgas	Conteúdo de óleo (% massa seca)	Produtividade de óleo (mg L⁻¹ d⁻¹)
<i>Chlorella protothecoides</i>	23-55	1214
<i>Chlorella vulgaris</i>	5-50	-
<i>Chlorella sorokiniana</i>	19-22	45
<i>Nannochloropsis oculata</i>	22-30	84-142
<i>Dunaliella salina</i>	14-20	116
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-65	90-134
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18-57	45
<i>Spirulina máxima</i>	4-9	-
<i>Chlorococcum</i> sp.	19	54

Apesar dos valores expressivos no percentual de lipídeos de várias microalgas, é possível aumentar estes valores a fim de auxiliar a viabilização econômica da produção de biodiesel a partir do óleo de microalgas. Quando as microalgas são submetidas a condições de estresse, como falta de nutrientes, anaerobiose ou temperaturas extremas, elas geralmente respondem intensificando seu metabolismo e acumulando lipídios como fonte de energia, consequentemente haverá uma maior produção de biodiesel. Embora o crescimento real e a produção de biomassa nestas condições sejam limitados, as células ainda são capazes de fixar CO₂ e acumular amido ou lipídeos, substâncias importantes para garantir a sobrevivência (FRANCO *et al.*, 2013).

Experimentos realizados por JIANG (2006) citados por FRANCO *et al.* (2013) foram executados com o propósito de contornar o problema de uma possível baixa produtividade geral em óleo. Neste experimento as condições de *stress* são aplicadas numa segunda etapa de cultivo,

após uma primeira etapa em que se oferecem condições apropriadas para um crescimento celular máximo. Visando também a redução de custos no cultivo, foram utilizadas uma mistura de água do mar e água residual municipal como meio de cultivo e CO₂ residual como fonte de carbono. Foi observado um aumento na concentração celular e no teor de lipídeos, de 0,71 para 2,23 g L⁻¹ e de 33,8% v/v para 59,9% v/v, respectivamente, após 12 dias de cultivo na segunda fase, utilizando-se água residual municipal e aeração com CO₂.

A caracterização do biodiesel pode ser feita aplicando-se diferentes correlações. A maior razão para tal caracterização é devido ao fato do biodiesel ser uma mistura de alguns componentes pertencentes à mesma família (VALDEZ-OJEDA, 2015). A seleção do biodiesel é baseada, principalmente, no perfil do ácido graxo, na qual determina as principais propriedades do biodiesel e sua qualidade (VALDEZ-OJEDA, 2015). Algumas das mais importantes propriedades que avaliam o biodiesel como um substituto do diesel incluem viscosidade cinemática, gravidade específica, número de cetano, ponto de entupimento do filtro frio (CPFF) e valores de iodo. Um número alto de cetanos é um dos mais importantes indicadores de boa combustão, motor de arranque e baixa emissão de óxido nitroso (ABOMOHR *et al.*, 2016). Por outro lado, maiores valores de iodo podem resultar em polimerização de glicerídeos e deposição de lubrificante no motor (ABOMOHR *et al.*, 2016).

Os perfis adequados do biodiesel são geralmente associados com a espécie da microalga em questão, como *Scenedesmus* e *Desmodesmus*. A *Scenedesmus obliquus* cumpriu os padrões em termos de número de cetano e estabilidade de oxidação. Em comparação com outras espécies de microalgas, como *Chlorella*, *Haematococcus*, *Ulothrix*, *Chlorococcum*, *Rivularia* e *Scytonema*, a *Scenedesmus* apresentou o maior conteúdo lipídico de 27,4% da biomassa seca (VALDEZ-OJEDA, 2015).

O cultivo de microalgas apresenta vantagens como, não competir com produções agrícolas de alimentos, utilizar solos inapropriados para a agricultura, ocupar uma área de produção menor, pois apresentam produtividade significativamente superior à das plantas oleaginosas, aproximadamente 89,9 % em relação à palma e 99,2 % à soja (Tabela 3) e a sua produção pode ser realizada em fotobiorreatores compactos, o que permite obter um volume de cultivo maior para a mesma área de uma lagoa (CHISTI, 2007). A viabilidade econômica da produção de biodiesel também está fundamentada no preço do petróleo, pois é um potencial substituto do diesel. O aumento do preço do barril de petróleo, que tem ocorrido nos últimos anos, torna mais

viável a produção de biodiesel (LOERA–QUEZADA e OLGUÍN, 2010 apud LEMOS, 2012). Assim o interesse em pesquisas que exploram a redução do custo da produção do biodiesel tem sido grande, principalmente em relação a métodos de reduzir o custo da matéria-prima que será utilizada na produção dos ácidos graxos (MENG *et al.*, 2009 apud LEMOS, 2012).

Uma revisão dos estudos de ACV (Análise do Ciclo de Vida) para a produção do biodiesel desde a década de 90 aponta convergências quanto ao balanço energético favorável, apresentando valores na faixa de 1,5 a 5,0 (uma unidade de energia investida no sistema produz até cinco unidades de energia), tendo sua variação associada às diferentes matérias-primas, intensidades no uso de insumos agroquímicos e cenários de coprodutos (FRANCO, 2013).

Tabela 3. Rendimento de plantas oleaginosas e microalgas utilizadas na produção de biodiesel (Adaptado de CHISTI, 2007)

Cultura	Rendimento de óleo (L.ha⁻¹)	Área necessária (Mha)^a
Milho	172	1540
Soja	446	592
Canola	1190	223
Coco	2689	99
Óleo de palma	5950	45
Microalga ^b	136.900	2
Microalga ^c	58.700	4,5

NOTA – ^a Para atender 50% de todos os combustíveis necessários aos transportes no EUA.; ^b 70% óleo (por massa) em biomassa; ^c 30% óleo (por massa) em biomassa.

5. PRODUÇÃO DE MICROALGAS

No ambiente natural, assim como nos cultivos, o crescimento de uma população de microalgas é resultado da interação entre fatores biológicos, físicos e químicos (RAVEN, 1988 apud DERNER, 2006). Os fatores biológicos estão relacionados às próprias taxas metabólicas da espécie cultivada, bem como com a possível influência de outros organismos sobre o desenvolvimento algal. Quanto aos fatores físico-químicos, são principalmente reportados estudos sobre iluminação, temperatura, salinidade e disponibilidade de nutrientes (HELLENBUST, 1970; GUILLARD, 1975; EPPLEY, 1977; YONGMANITCHAI e WARD, 1991 apud DERNER, 2006).

Os sistemas comumente empregados são pouco sofisticados, uma vez que muitas empresas desenvolvem cultivos a céu aberto, sob condições naturais de iluminação e temperatura, e com baixo ou nenhum controle destes parâmetros ambientais. Os tanques são geralmente rasos, construídos em concreto, fibra de vidro, policarbonato, com fundo de terra ou revestido com material plástico, sendo que as culturas são constantemente agitadas (DERNER, 2006).

5.1. Cultivo

5.1.1. Cultivo fechado (fotobiorreator)

Recentemente, alguns cultivos têm sido desenvolvidos em equipamento específico, denominado fotobiorreator, visando alcançar elevada produtividade. Os cultivos são realizados em sistema fechado, em painéis de forma achatada ou em serpentinas, espirais ou cilindros, construídos com tubos de plástico, vidro ou policarbonato. O sistema de tubos transparentes é o mais eficiente em sua geometria, com pequenos diâmetros, facilitando a difusão do CO₂, maximizando o uso da luz solar, por não causar grandes áreas com sombras e por manter a temperatura controlada (ABOMOHRA *et al.*, 2016). A construção do maior fotobiorreator tubular foi iniciado em 1999 em Klötze (Alemanha) pela BisanTech, ilustrado na Figura 8 (ABOMOHRA *et al.*, 2016). Nos fotobiorreatores, é possível controlar as condições de cultivo como quantidade dos nutrientes, temperatura, iluminação, pH e o potencial de contaminação é menor em comparação com os sistemas abertos, como resultado da menor exposição da cultura ao ambiente. Isto implica uma elevada produtividade, viabilizando a produção comercial de uma série de compostos de elevado valor (TREDICI, 2004 apud DERNER, 2006). A sedimentação da biomassa é prevenida pela alta turbulência utilizando-se bombas mecânicas e *airlift*, que também distribuem igualmente os gases CO₂, O₂ e os nutrientes necessários (ABOMOHRA *et al.*, 2016). Contudo, os custos de implementação e de operação destes sistemas são superiores aos dos cultivos abertos.

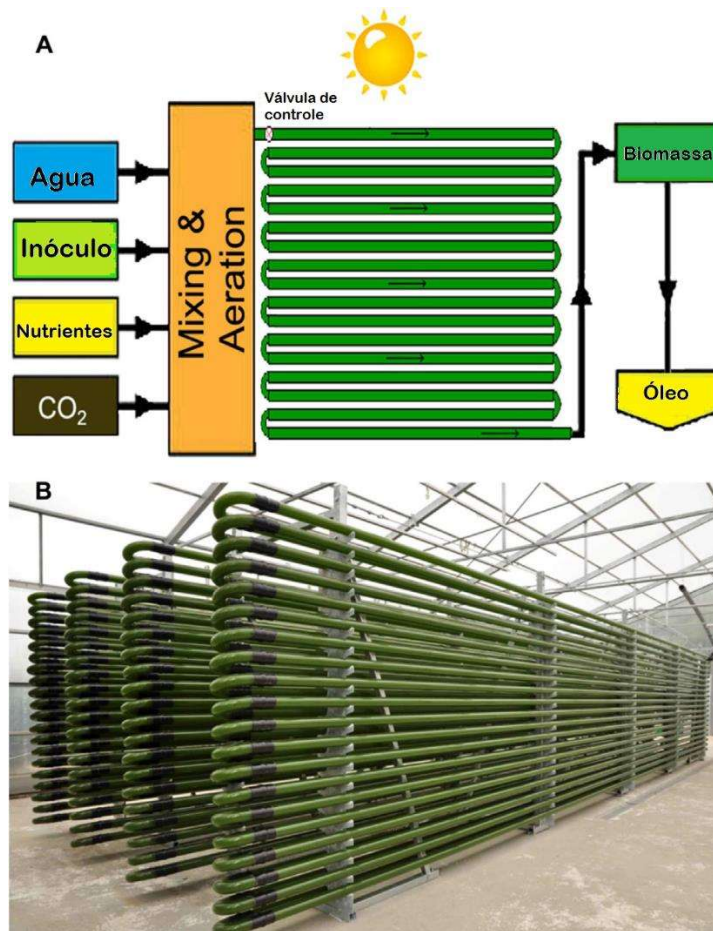


Figura 8. Esquema de um sistema de fotobiorreator tubular (A) e a vista parcial do fotobiorreator (B) localizado em Klötze, Alemanha (Adaptado de ABOMOHRA *et al.*, 2016).

5.1.2. Cultivo aberto

Grande parte dos cultivos de microalgas tem sido realizada em lagoas e tanques abertos de baixo custo que utilizam a luz solar e o CO₂ da atmosfera. Nestes sistemas podem ser adicionados nutrientes permitindo o crescimento de algas. Apesar de ser um sistema de baixo custo apresenta dificuldades na eficiência do controle de crescimento (HUNDT e REDDY, 2011 apud LEMOS, 2012). A temperatura varia conforme as condições do ambiente, o arrefecimento só é possível por evaporação, perdas por evaporação podem ser significativas, em consequência disto a eficiência na absorção do CO₂ é muito menor que em um fotobiorreator. O controle cuidadoso do pH e outros fatores físicos permitem a utilização de 90% do CO₂ pelas microalgas (SHEERAN *et al.*, 1998). Também há ocorrência de contaminações, por bactérias, fungos, protozoários, entre outros, que diminuem a produtividade. Os tanques são mais baratos do que os fotobiorreatores, porque o custo de construção e operação são menores, porém, a produtividade de biomassa é menor (CHISTI,

2007). A Tabela 4 mostra vantagens e desvantagens dos sistemas de produção abertos e fechados para os principais parâmetros.

Tabela 4. Comparação de cultivo aberto e fotobiorreator (cultivo fechado) (ABOMOHRA *et al.*, 2016)

Parâmetro	Cultivo Aberto	Fotobiorreator
Regime operacional	Batelada ou semi-contínuo	Batelada ou semi-contínuo
Produtividade volumétrica (kg m ⁻³ d ⁻¹)	0,117	1,54
Produção de óleo (m ³ ha ⁻¹) ^a	56,8	78,2
Área necessária (m ²) ^b	7828	5681
Produção de biomassa (kg m ⁻³)	0,14	4
Consumo anual de CO ₂ (kg) ^c	183,333	183,333
Eficiência da luz	Pobre	Altamente eficiente
Aumento de escala	Difícil	Fácil
Controle do processo	Difícil	Fácil
Controle de espécies	Difícil	Possível
Mistura	Muito pobre	Uniforme
Custos de operação	Baixo	Alto
Perdas de água	Alta	Baixa

^a Para microalgas com 40% de óleo sobre a massa seca.

^b Para atender 50% da necessidade de combustível nos EUA.

^c Correspondente a produção de biomassa anual de 100 toneladas.

Cultivos abertos (Figura 9) devem considerar as necessidades da cultura, como agitação, fornecimento de nutrientes, colheita, fornecimento de CO₂, drenagem, possíveis aumentos de vazões e limpeza. O fluxo nos tanques deve ser turbulento para manter a agitação satisfatória, prevenir estratificação e melhorar a dissolução de oxigênio produzido pela fotossíntese. A homogeneidade dos tanques abertos é controlada por pás de agitação, na qual operam o tempo todo para prevenir a sedimentação (ABOMOHRA *et al.*, 2016).



Figura 9. Cultivo de microalgas em tanques abertos (SILVA, 2013).

5.2. Espécies de microalgas

Além das condições de cultivo serem um fator importantíssimo para o rendimento lipídico em microalgas, as diferentes espécies e gêneros das mesmas podem apresentar qualidade e teores de lipídios distintos. Algumas espécies apresentam morfologia e fisiologia favoráveis a produção de lipídios.

Tabela 5. Diferentes resultados observados em espécies de microalgas (Adaptada de LEE *e. al.*, 2010).

Item	<i>Botryococcus</i> sp.	<i>C. vulgaris</i>	<i>Scenedesmus</i> sp.
Dias de incubação	14	7	7
Peso seco (g L^{-1})	0.5	0.5	0.5
Produtividade da biomassa ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	35.7	74.2	71.4
Conteúdo lipídico médio (mg L^{-1})	160.3	77.9	66.5
Produtividade lipídica ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	11.5	11.1	9.5

Através da Tabela 5 pode-se notar que a espécie *Botryococcus* sp. deve ser incubada durante um período maior de tempo para que sua produção de biomassa tenha uma quantidade significativa. Porém, sua produtividade lipídica se aproxima à produtividade da espécie *C. vulgaris*, sendo o seu conteúdo lipídico o maior dentre as três espécies. A *Chlorella* sp., uma das espécies mais comum entre as microalgas, são verdes e não flageladas. Podem ser encontradas tanto em águas marinhas quanto em águas doces e no solo. É capaz de crescer sobre

condições fototróficas e heterotróficas, dependendo das condições de cultivos ambientais e se reproduz rapidamente podendo atingir grande população em curtos períodos de tempo. Algumas das espécies mais comuns em cultivos de microalgas são ilustradas pela Figura 10.

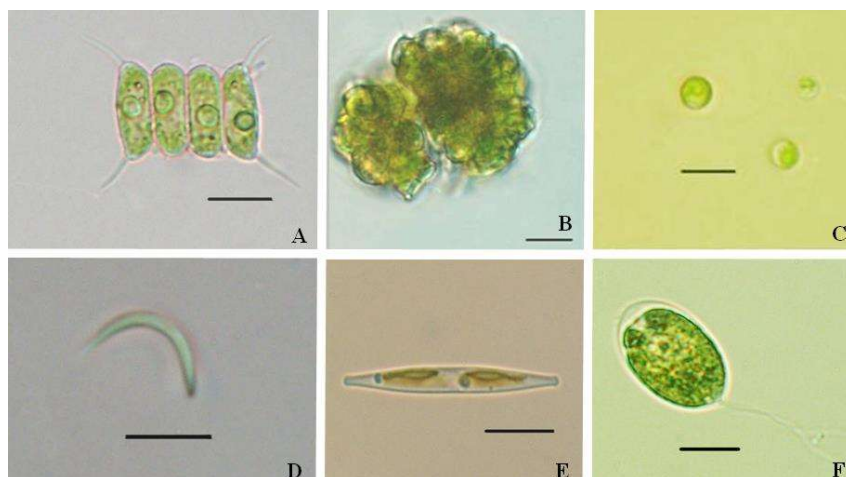


Figura 10. Diferentes gêneros de microalgas. (A) *Scenedesmus* sp., (B) *Botryococcus* sp., (C) *Chlorella* sp., (D) *Monoraphidium* sp. (E) *Navicula* sp., (F) *Chlamydomonas* sp. Fonte: disponível em: http://www.prcmu.cmu.ac.th/perin_detail.php?perin_id=455

5.3. Separação de água da biomassa microalgal

Para o emprego na elaboração de alimentos, bem como para a extração de alguma substância de interesse, é necessário primeiramente separar a biomassa do meio de cultura. O processo de separação envolve uma ou mais etapas sólido-líquido, como floculação seguida de sedimentação, centrifugação e filtração, por exemplo. A seguir, a biomassa é desidratada. Para tanto, podem ser empregadas diversas técnicas, como a secagem ao sol ou em estufa, o “spray-drying” e a liofilização (DERNER, 2006).

A escolha do método de separação é baseada nas características da microalga em questão, no tipo de cultivo e no destino de uso da biomassa, entre outros aspectos. Alguns gêneros de microalgas são células com maiores diâmetros, e assim, mais fáceis de serem separadas por simples filtração. As etapas de separação e secagem da biomassa podem representar uma parcela significativa na viabilidade econômica do processo de produção de biodiesel, estes custos podem variar de 3,3 a 30%, dependendo da morfologia das espécies e do tipo de cultivo (FRANCO, 2013).

5.3.1. Centrifugação

A centrifugação é um método que vem sendo empregado com sucesso na concentração de microalgas devido à sua alta eficiência. No entanto, este método expõe as células a uma elevada força de cisalhamento, podendo danificá-las; também apresenta alta demanda de energia e alto custo, sendo adequada apenas para produtos de alto valor comercial.

5.3.2. Floculação

A floculação ocorre por meio da eletrocoagulação e da biofloculação. A coagulação é um processo que envolve ajuste de pH ou adição de eletrólitos, enquanto a floculação envolve a adição de polímeros catiônicos, apesar destes termos serem geralmente utilizados sem nenhuma diferenciação (FRANCO, 2013). Durante a floculação as microalgas aderem umas às outras formando agregados pesados que se sedimentam e se transformam em concentrados destas (HALIM *et al.*, 2012). Sais de alumínio e de ferro são usados como agentes coagulantes/floculantes em tratamento de água e, por conseguinte, são usados também para flocular as microalgas (FRANCO, 2013). Esses últimos processos de separação de microalgas têm sido escolhidos devido a sua baixa demanda energética e consequentemente menor custo, mas ainda apresentam limitações quanto a escalas industriais.

5.3.3. Filtração

Neste método a cultura líquida de microalgas passa por filtros com poros adequados que retêm esses micro-organismos e permite que o meio de cultivo seja filtrado. Microfiltração, filtração a vácuo, filtração por pressão, ultra filtração e filtração tangencial são diferentes formas de filtração que podem ser aplicadas. Porém, a espuma de poliuretano vem sendo muito usada como filtro, apresentando eficiência na adsorção de matéria orgânica, corantes e outros; além do seu baixo custo. O uso deste filtro mostrou bons resultados no tratamento de efluentes domésticos, para remoção de matéria orgânica, e efluentes industriais (MARIOT *et al.*, 2013).

5.4. Rompimento celular

Deve-se retirar o excesso de água da biomassa, antes ou após o rompimento celular, afim de otimizar as próximas etapas no tratamento dessa biomassa (FRANCO, 2013). Para a extração

dos compostos, as células microalgais são rompidas, empregando métodos de homogeneização, ultrassom, choque osmótico, solventes, enzimas, moinho de bolas, prensa francesa, etc. O concentrado celular é exposto ao rompimento, na qual rompe as estruturas de membrana de parede celular. Esse procedimento força a liberação de produtos intracelular no meio, um deles são as moléculas de lipídio que serão extraídas em um outro processo. Os diferentes métodos de rompimentos devem ser empregados levando-se em conta as características da membrana celular da microalga e as características de seu cultivo (FRANCO, 2013).

6. EXTRACAO DE LIPÍDIOS VOLTADOS À PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Diversos tipos de lipídeos são produzidos pelas microalgas e a distribuição destes nas células depende da espécie, assim como das condições de cultivo. Estes lipídeos incluem fosfolipídeos, glicolipídeos, monoacilgliceróis, diacilgliceróis e triacilgliceróis, dentre outros. Dentre os tipos de lipídeos extraídos das microalgas apenas os triacilgliceróis (lipídios neutros) são facilmente convertidos em biodiesel pelo método de transesterificação (FRANCO, 2013).

O método de extração de lipídeos da biomassa microalgal para este fim deve ser o mais específico e seletivo possível, a fim de minimizar a extração das frações não lipídicas e maximizar as frações desejadas. Procedimentos consagrados para extração de óleo de sementes vegetais, tais como prensagem e extração por solventes químicos, além da combinação dos dois métodos, têm sido adaptados às microalgas (FRANCO, 2013).

6.1. Solventes orgânicos

O princípio desse método de extração de lipídios está ligado ao conceito básico da química de semelhante dissolve semelhante. As células de microalgas são separadas do meio de cultivo podendo contêm resíduos de água. Os solventes são aplicados diretamente a essa biomassa, onde o lipídio torna-se solúvel no solvente orgânico. A porção extraída com o solvente deve ser tratada afim de não prejudicar a qualidade dos lipídios para a produção de biodiesel. Solventes usados para extração de lipídios devem ter uma alta solubilidade para todos os compostos lipídicos e ser suficientemente polar para remove-los dos locais de ligações com as membranas celulares, lipoproteínas e glicoproteínas (SMEDES e ASKLAND, 1999 apud MANIRAKIZA; COVACI, 2001).

Devido às interações entre longa cadeia hidrofóbica de ácidos graxos, lipídios neutros fazem fracas ligações de van der Waals entre um e outro, formando glóbulos no citoplasma da célula (KATES, 1986; MEDINA *et al.*, 1998 apud HALIM *et al.*, 2012). Quando a microalga é exposta ao solvente orgânico não polar, como hexano e clorofórmio, o solvente penetra através da membrana até o citoplasma e interage com lipídios neutros formando um complexo orgânico solvente-lipídios. Esse complexo se difunde através da membrana e, como resultado, esses lipídios neutros ficam dissolvidos no solvente orgânico não polar. O uso do solvente não polar não atinge a porção lipídica da membrana da célula, extraíndo somente os lipídios presentes no citoplasma (HALIM *et al.*, 2012).

Porém, alguns lipídios neutros são encontrados no citoplasma formando um complexo com lipídios polares. Esse complexo é fortemente ligado à membrana da célula por pontes de hidrogênio (HALIM *et al.*, 2012). Assim, os solventes polares como metanol e isopropanol são capazes de formar pontes de hidrogênio com os lipídios polares do complexo, e romper a associação lipídio-proteína, afetando a membrana celular das microalgas (KATES, 1986; MEDINA *et al.*, 1998 apud HALIM *et al.*, 2012). Em algumas práticas laboratoriais, ambos solventes (polar e não polar) são adicionados simultaneamente à biomassa para garantir uma completa extração de todos os lipídios neutros, mesmo que uma porção de lipídios polares seja também extraída.

Conforme mostra a Figura 11, a biomassa de microalgas cultivadas em fotobiorreatores (a) é centrifugada (b), desidratada em forno (c) e levada ao pistilo para rompimento celular (d). A biomassa seca é colocada em um béquer contendo os solventes hexano/isopropanol, onde é aquecida, ocorrendo a extração de lipídios (e). A porção lipídica bruta é separada das células por método de separação sólido-líquido, como a filtração (f), restando a porção lipídio-solvente no filtrado que é levada a destilação (g) para a remoção do solvente e posterior transesterificação (h). A separação bifásica dos solventes polares e não polares usados na extração é induzida por adição de solvente não polar e água. Ocorrendo a separação bifásica desta mistura, lipídios neutros e polares serão encontrados na fase orgânica (mistura de solventes não polar e polar), enquanto na fase aquosa (mistura de água e solvente polar) serão encontrados contaminantes não lipídicos, como proteínas e carboidratos (KATES, 1986; MEDINA *et al.*, 1998 apud HALIM *et al.*, 2012). A separação bifásica remove não só a água residual, mas também contaminantes da mistura de solventes orgânicos com lipídios. Assim, a fase orgânica, contendo

lipídios neutros e polares, é decantada e os solventes são evaporados, restando apenas a parte lipídica que é medida por gravimetria (HALIM *et al.*, 2012)

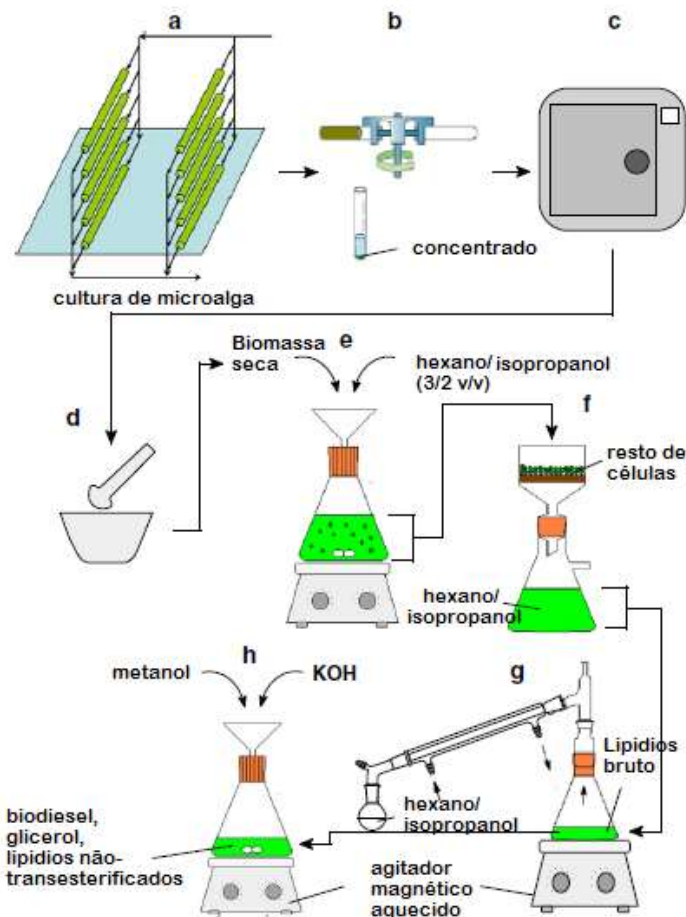


Figura 11. Método de extração de lipídios em microalgas usando solventes: a) cultura de microalgas; b) centrifugação; c) aquecimento em forno; d) maceração da biomassa; e) adição de biomassa microalgal e solventes orgânicos; f) separação de células dos solventes orgânicos; g) evaporação dos solventes; h) adição de metanol e catalizador para transesterificação (HALIM *et al.*, 2012)

6.2. Métodos gravimétricos com solventes orgânicos

Métodos gravimétricos baseados na extração com hexano em *Soxhlet* ou no método de *Bligh e Dyer* (extração com mistura clorofórmio/metanol) são comumente empregados para determinação do teor de lipídeos totais. Ambos os métodos utilizam o princípio da difusão para remoção dos lipídeos. Dentre os solventes, ou mistura destes, que podem ser empregados na extração, o etanol apresenta alta eficiência de extração, mas diversos contaminantes polares

podem ser extraídos, tais como, sais, aminoácidos, açúcares, pigmentos e proteínas hidrofóbicas.

6.2.1. *Soxhlet*

O *Soxhlet* é um aparato que utiliza continuamente solvente orgânico para a extração de lipídios. Com vários ciclos de evaporação e condensação do solvente, o *Soxhlet* reabastece as células com solvente fresco enquanto, simultaneamente, diminui o consumo do mesmo (LUQUE DE CASTRO e GARCIA-AYUSO, 1998; WANG e WELLER, 2006 apud HALIM *et al.*, 2012). O aparato, ilustrado pela Figura 12 é formado por três partes: um balão volumétrico, continuamente aquecido, contendo o solvente orgânico; o extrator onde as microalgas são colocadas; e o condensador sendo resfriado com água a temperatura ambiente.

O solvente orgânico (1) é aquecido em banho maria no balão volumétrico (2), passando pelo tubo (7) e percorrendo em fluxo ascendente até chegar ao condensador (9). No condensador o vapor do solvente é condensado com a ajuda do fluxo de água presente ao redor do condensador, na qual entra e sai do local por tubos instalados em (10) e (11), respectivamente. Uma vez condensado, o solvente percorre a estrutura (9) até chegar à (4) onde estão localizadas as microalgas envolvidas em filtro para a extração lipídica. O solvente permanece em (4) por alguns minutos, até que ocorra a ligação lipídio-solvente e o mesmo atinja a altura de transbordamento, descarregando o sifão (6) e retornando o fluxo até o balão volumétrico. Assim, o solvente que entra em contato com as microalgas, e carrega consigo lipídios provindos das mesmas. O solvente é aquecido novamente e o mesmo procedimento descrito acima ocorre novamente. Alguns desses ciclos são repetidos até que a extração de lipídios seja a máxima possível. Apesar do *Soxhlet* evitar o uso excessivo de solventes, há a necessidade de muita energia para que o processo de destilação ocorra (CASTRO e AYUSO, 1998; WANG e WELLER, 2006 apud HALIM *et al.*, 2012). Porém, alguns estudos por GUCKERT *et al.* (1988) e HALIMET *et al.* (2011), citados por HALIM *et al.* (2012) comprovam a eficácia superior em extração do *Soxhlet* quando comparado ao uso somente de solventes orgânicos.

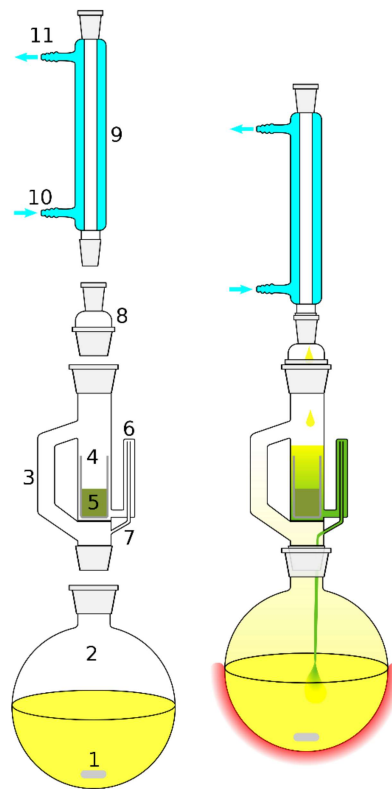


Figura 12. Soxhlet utilizado para extração de lipídios: 1) solvente sendo aquecido; 2) balão volumétrico; 3) orifício de evaporação do solvente; 4) reservatório da biomassa a sofrer extração; 5) microalgas; 6) retorno do solvente já carregando lipídios; 7) orifício de passagem da solução solvente-lipídio; 8) ligação da vidraria onde ocorre a extração e o condensador de solvente; 9) condensador; 10) entrada de água para troca de calor; 11) saída de água (HALIM *et al.* 2012).

6.2.2. Método de *Bligh e Dyer*

O método de *Bligh-Dyer* (BLIGH e DYER, 1959) não é complexo, pois utiliza apenas vidraria simples, não dependendo de nenhum equipamento específico ou sofisticado. Por outro lado, para sua execução são necessários solventes orgânicos como clorofórmio e metanol, seu procedimento é lento e gera uma grande quantidade de resíduos. Apesar de ser o método oficial empregado atualmente na indústria alimentícia, seus aspectos negativos comprovam a necessidade de se desenvolver um método alternativo para determinação de teores de gorduras em alimentos (PENTEADO, 2013)

Nesse método, a amostra é misturada com metanol e clorofórmio numa proporção em que formam uma fase. A adição de mais clorofórmio e água, após agitação, promove a formação de duas fases distintas, uma de clorofórmio, contendo lipídios, e a outra de metanol e água, fase

aquosa, podendo ser executada rapidamente com a ajuda de uma centrífuga. A fase de clorofórmio com a gordura é separada e, após a evaporação do solvente, obtém-se a pesagem quantitativa de gordura (TERRA, 2009 apud PENTEADO, 2013). O processo todo leva em torno de 7 horas para ser concluído.

6.3. Ultrassom e micro-ondas com e sem o auxílio de solventes orgânicos

Têm sido realizados estudos com o emprego de extração assistida por ultrassom ou micro-ondas, buscando-se o máximo de remoção dos lipídeos. As ondas são aplicadas como método de rompimento das células, promovendo um maior contato do seu conteúdo interno com o solvente extrator. BALASUBRAMANIAN (2011) citado por FRANCO (2013) realizou comparações entre extrações utilizando hexano como solvente extrator, com e sem irradiação de micro-ondas. Segundo o autor, a extração assistida por micro-ondas possibilitou uma maior recuperação de lipídeos, com uma maior proporção de ácidos graxos poli-insaturados. Em caso do uso de solventes para extração de lipídios, a porção extraída deve ser tratada afim de não prejudicar a qualidade dos lipídios para a produção de biodiesel.

6.3.1. Ultrassom

A espessura das paredes celulares das microalgas bloqueia o lançamento de lipídios intracelulares e o uso de métodos como extração por solventes e pressão mecânica, fornece uma menor quantidade de lipídios. O princípio da extração auxiliada por ultrassom baseia-se na sonicação intensa da cultura de microalgas gerando ondas sonoras que se propagam pelo meio de cultura e resulta em ciclos de alta pressão alternada de baixa pressão. Durante o ciclo de alta pressão, as pequenas bolhas de vácuo, na qual são produzidas em baixa pressão, colapsam violentamente e resultam num fenômeno chamado cavitação. A cavitação rompe a estrutura da membrana celular e aumenta a capacidade de transferência de material para o meio, favorecendo a extração de lipídios (MUBARAK *et al.*, 2015).

6.3.2. Ultrassom sem o uso de solventes orgânicos

ADAM *et al.* (2012) propôs um novo método de extração de lipídios em microalgas *Nannochloropsis oculata* sem o uso de solventes orgânicos, ou com um uso mínimo deste,

usando o método ultrassom. Foram analisadas várias variáveis no processo de extração para que a resposta ao processo fosse otimizada. A otimização na recuperação do óleo, como a potência no ultrassom, tempo de extração e umidade da biomassa foram comparadas com o método de extração de *Bligh Dyer*.

O processo de extração de lipídios sem o uso de solventes orgânicos é ecologicamente correto, colaborando com o desenvolvimento sustentável. Além disso, há economia em uso de solventes, energia e tempo, pois o processo sem o uso de solventes leva menos tempo para concluir a extração e não há a necessidade de separação de solvente do lipídio bruto. Todos esses fatores são altamente relevantes na implementação da produção do biodiesel em larga escala (ADAM *et al.*, 2012).

O sistema de extração em ultrassom é uma técnica alternativa capaz de resolver problemas associados com os métodos convencionais, devido a facilidade de manuseio e condições de trabalho, dando uma maior pureza ao produto final, eliminando um pós-tratamento de efluentes. Além disso, o processo pode ser completo em alguns minutos ao invés de algumas horas, como no sistema convencional (ADAM *et al.*, 2012).

No pré-tratamento das microalgas, ADAM *et al.* (2012) separa a biomassa da cultura por centrifugação. Essa biomassa, em meio aquoso, é inserida no ultrassom, que opera em baixa frequência (20kHz). Após a extração, o óleo é separado da suspensão aquosa com a adição de uma solução salina que promove a desemulsificação da emulsão óleo/água. A solução é, então, levada a uma centrifuga e há a adição de alguns mililitros de solventes, como hexano/isopropanol para que a separação total das fases orgânica e aquosa fosse efetiva e o lipídio obtido com sucesso.

6.3.3. Micro-ondas

Micro-ondas são radiações eletromagnéticas de frequência entre 0.3 a 300 GHz. O aquecimento auxiliado pelo forno micro-ondas pode penetrar através dos biomateriais, interagir com moléculas polares, como a água na biomassa das microalgas, e aquecer a amostra uniformemente. A maior quantidade de óleo com quantidade superior e tempo de extração reduzido são as maiores vantagens da extração em micro-ondas.

Em experimentos realizados por LEE *et al.* (2010), o método de extração lipídica por micro-ondas apresentou uma maior quantidade de lipídio extraído dentre outros métodos testados, como o método de ultrassom. Os resultados obtidos por LEE *et al.* (2010) provaram que o método do micro-ondas é o mais simples em manuseio e eficiente na extração de lipídios em microalgas. Além do mais, esse método pode ser utilizado em larga escala. Afim de otimizar a extração de biodiesel, esse equipamento pode ser usado juntamente com solventes orgânicos para extração.

6.4. Quantificação de lipídios

De forma geral, após a extração são obtidos os lipídeos totais, que compreendem ácidos graxos, hidrocarbonetos, esteroides, acilgliceróis, pigmentos e os glicolipídeos e fosfolipídeos. Os lipídeos neutros, que são a fração conversível em biodiesel, são obtidos pela redissolução dos lipídeos totais em hexano, seguida da filtração em carvão ativado para remoção de pigmentos. Após a eliminação do solvente por evaporação, a massa dos lipídeos neutros é então determinada (FRANCO, 2013).

Estimativas mais rápidas para quantificação de lipídeos neutros intracelulares *in vivo* podem ser obtidas por citometria em fluxo, utilizando o corante vermelho do Nilo. Esta técnica baseia-se na medida da fluorescência do corante dissolvido em lipídeos neutros e da fluorescência da clorofila, com picos de emissão em 570 e 675 nm, respectivamente. Por se tratar de um método rápido e menos laborioso, tem sido muito empregado para seleção de espécies de algas de alta produtividade em triacilgliceróis (FRANCO, 2013).

A avaliação dos triacilgliceróis quanto à sua composição em ácidos graxos é de fundamental importância, dada a influência destes sobre propriedades do biodiesel como: a viscosidade cinemática, a massa específica, o ponto de entupimento de filtro a frio e a estabilidade oxidativa. A composição em ácidos graxos varia com a espécie da microalga, podendo diferir no tamanho da cadeia carbônica e/ou na presença e na quantidade de insaturações. Os ácidos graxos mais comuns possuem de 16 a 18 átomos de carbono na cadeia da carboxila (FRANCO, 2013).

Os catalisadores podem ser alcalinos, ácidos ou enzimáticos. Os alcalinos incluem o hidróxido de sódio, hidróxido de potássio e correspondentes alcóxidos de sódio e potássio. Os ácidos incluem o ácido sulfúrico, ácido sulfônico e ácido hidrolórico. No caso da reação catalisada por enzimas, os biocatalisadores mais utilizados são as lipases (MA e HANNA, 1999 apud PINTO, 2013). Um fator a ter presente nestas reações é a possível presença de fósforo nos óleos que pode conduzir à destruição dos catalisadores na reação de transesterificação, reduzindo assim o rendimento em ésteres (FREEDMAN *et al.*, 1984 apud PINTO, 2013). As propriedades do biodiesel são praticamente as mesmas que as do gasóleo utilizado no setor dos transportes em termos de densidade e número de cetano, apresentando, contudo, um ponto de inflamação mais elevado. Dadas as suas semelhanças, o biodiesel e o gasóleo podem ser misturados, embora com incorporações menores de biodiesel e posteriormente ser utilizados em motores de ignição por compressão sem haver necessidade de recurso a adaptações especiais dos mesmos (MONTEIRO, 2009 apud PINTO, 2013).

Buscando superar as limitações da etapa de extração do óleo de células de microalgas, JOHNSON e WEN (2009) citados por FRANCO (2013), avaliaram o potencial de produção de biodiesel a partir da microalga *Schizochytrium limacinum* através da transesterificação *in situ* da biomassa algal, utilizando como solventes clorofórmio, hexano ou éter de petróleo. Produziu-se biodiesel através de dois métodos: extração do óleo das células de microalgas, seguida por transesterificação, e transesterificação direta (*in situ*) da biomassa microalgal. Os autores obtiveram o maior rendimento em biodiesel, quando utilizaram a transesterificação direta. WHAHLEN *et al.* (2011) citados por FRANCO (2013) avaliaram a influência do teor de água residual na biomassa microalgal na cinética da transesterificação direta e, conforme se esperava, constataram que quanto maior o teor de água, menor o rendimento em ésteres, ressaltando a importância do processo de secagem.

Como já mencionado anteriormente, a produção de biodiesel também pode ser conduzida com o uso de catalisadores heterogêneos. Esta tecnologia possibilita a redução significativa das etapas de purificação dos produtos (biodiesel e glicerina), uma vez que permite, ao contrário do processo que usa catalisadores homogêneos, a fácil separação dos produtos e ainda a reutilização do catalisador sólido ao longo de sua vida útil, com consequente redução da geração de efluentes. Um processo contínuo que usa catalisador heterogêneo e diferentes espécies de microalgas foi estudado por Brian e colaboradores. Este processo, comercialmente conhecido

como processo Mcgyan[®], utiliza microesferas de óxido de titânio poroso nas condições super-críticas do metanol e permite a condução simultânea das reações de transesterificação dos triacilglicerídeos e da esterificação dos ácidos graxos livres em ésteres metílicos com eficiência de até 85% (FRANCO, 2013).

7. BIORREFINARIAS DE MICROALGAS

O custo da produção de biodiesel a partir de microalgas pode ser compensado por receitas geradas de outros coprodutos dessa biomassa. Esses micro-organismos contêm uma significativa quantidade de proteínas e carboidratos, como também possuem pequenas quantidades de alimentos de alto valor funcional (astaxantina, carotenoides, clorofila, ômega 3 e ácido alfa-linoleico) (HALIM *et al.*, 2012). Semelhante a uma refinaria de petróleo, a biorrefinaria usa todos os componentes da biomassa bruta para produzir produtos de uso comum. Devido a todos os componentes da biomassa serem utilizados, o custo total da produção de qualquer produto é diminuído.

Algumas refinarias integradas já estão sendo operadas no Canadá, Estados Unidos e Alemanha, produzindo biocombustíveis e outros produtos de plantações de milho e soja. Essa abordagem pode ser usada para reduzir o custo na produção de biodiesel de microalgas (CHISTI, 2007). Estudos recentes concluíram que uma escala industrial de produção de biodiesel de microalgas somente será economicamente sustentável se uma biorrefinaria baseada nessa estratégia de produção for colocada em prática (WIJFFELS *et al.*, 2010 apud HALIM *et al.*, 2012).

A porção proteica das microalgas que não é usada na produção de biodiesel pode ser usada como ração para gados. Alguns resíduos de biomassa podem ser usados para produzir metano em digestores anaeróbicos, gerando energia elétrica necessária para o funcionamento da unidade de produção de biomassa das microalgas. O excesso de energia pode ser vendido para cobrir custos na produção de biodiesel (CHISTI, 2007). Infelizmente essa combinação de tecnologias necessárias para a implementação de uma biorrefinaria de microalgas ainda se encontra nos estágios iniciais de desenvolvimento (HALIM *et al.*, 2012). Os processos aplicados às microalgas, como rompimento celular e extração de lipídios também precisam ser explorados para assegurar que as funcionalidades de diferentes componentes na célula permaneçam (HALIM *et al.*, 2012).

8. VANTAGENS E LIMITAÇÕES DO CULTIVO DE MICROALGAS

Uma das principais limitações no cultivo de microalgas é o custo biológico. A qualidade das microalgas desempenha um papel importantíssimo na qualidade de seus produtos. Porém, alternativas com um menor custo vem sendo estudadas, como o uso de tanques abertos no cultivo das microalgas.

Segundo LARDON *et al.* (2009) citados por FRANCO (2013), nas condições propostas, o biodiesel de microalgas ainda não é uma alternativa ambientalmente favorável, mas com possibilidades de melhorias para reduzir a maior parte dos impactos identificados. Os seguintes aspectos são apontados como relevantes para a otimização: microalgas que mantenham altos teores de lipídeos com taxa de crescimento sustentado, métodos de extração energeticamente eficientes, recuperação de energia e de nutrientes dos coprodutos e resíduos do ciclo de vida do biodiesel, dentro do conceito de biorrefinarias integradas, visando o melhor aproveitamento dos recursos naturais e energéticos, com a minimização de perdas e de geração de resíduos.

CAMPBELL *et al.* (2011) citados por FRANCO (2013), realizaram um estudo de emissões de gases de efeito estufa, com base na ACV, comparando o biodiesel de microalgas cultivadas em tanques abertos com o biodiesel de canola e o diesel de baixo teor em enxofre. Os resultados indicaram vantagens para o biodiesel de microalgas para todos os cenários de fornecimento de CO₂, em comparação com os outros dois combustíveis.

Já HARTO *et al.* (2010) também citados por FRANCO (2013), realizaram ACV comparativa para avaliar o consumo de água de diferentes biocombustíveis propostos como alternativa para redução das emissões de gases estufa no setor de transporte. Os resultados indicaram um elevado consumo de água para a maioria dos biocombustíveis, com destaque para os produzidos a partir de cultivos agrícolas terrestres e de microalgas produzidas em sistemas abertos, em regiões semiáridas. Os autores ressaltam que a adoção em larga escala dessas tecnologias pode ter um impacto significativo sobre a demanda global de água.

DELRUE *et al.* (2011) citados por FRANCO (2013), avaliaram comparativamente a influência de diferentes parâmetros sobre o desempenho energético (razão de energia líquida), ambiental (pegadas de carbono e de água) e econômico (custos) da produção de biodiesel de microalgas. O cultivo em tanques abertos foi a opção de menor custo e emissão de gases de efeito estufa,

enquanto os fotobiorreatores se destacaram pelo baixo consumo de água. O balanço de energia, porém, foi equivalente nas duas alternativas. Com relação aos demais processos (secagem, extração e aproveitamento de coprodutos) destacaram-se a secagem em leitos, comparada com o uso de centrífugas, filtro prensa e secador solar; o uso do DME (éter dimetílico) em comparação ao uso do hexano e, a biodigestão, comparada à gaseificação.

9. SITUAÇÃO DO MERCADO E SUAS PERSPECTIVAS

Pelo ponto de vista econômico, o biodiesel de microalgas deve vir a competir com o diesel, o qual, no momento, é mais barato (ABOMOHRA *et al.*, 2016). O custo líquido da produção do biodiesel baseado em microalgas varia com a microalga cultivada devido a diferentes sistemas de cultura e métodos usados na colheita e refinação da microalga (ABOMOHRA *et al.*, 2016).

A pesquisa por fontes benéficas de biodiesel deve focar em matérias-primas que não compitam com plantações alimentares e não emitam gases de efeito estufa. Além disso, políticas coerentes devem abranger o contexto social da produção agrícola em relação ao biodiesel (ABOMOHRA *et al.*, 2016).

Apesar de as microalgas terem mostrado ser uma potencial fonte para a produção de biodiesel, o seu custo ainda é muito alto comparado com o custo do diesel derivado de petróleo. Esforços no mundo todo tem sido feito para alcançar uma produção de óleo de microalga em larga escala, mas no momento isso ainda apresenta uma abordagem limitada. Assim, muitos investimentos de vários governos e fundos provados estão vindo à tona para colocarem em pratica essa produção que ainda é um desafio (ABOMOHRA *et al.*, 2016).

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com esta revisão foi possível perceber o futuro promissor da aplicação das microalgas em muitos ramos industriais, principalmente na produção de biodiesel. Com o esgotamento dos combustíveis fósseis e a crescente procura por energias renováveis, o cultivo de microalgas é uma opção que vem se tornando cada dia mais possível. Além disso, estudos para estes micro-organismos vem sendo aprimorados e novas técnicas de cultivo e extração de compostos têm sido testadas, visando diminuir o custo de produção e aumentar a produtividade

de bioprodutos extraídos das microalgas. O tipo de cultivo, levando-se em conta fatores internos e externos, e os métodos de extração de bioprodutos podem fazer toda a diferença no resultado final e na disposição do produto desejado. Além da extração destes produtos, o processo de aproveitamento dessa biomassa em biorrefinarias, como na fermentação em biodigestores, nos mostra ainda mais vantagens do uso das microalgas. Por outro lado, os principais desafios encontram-se associados à busca de sistemas otimizados para elevar a produção de biomassa e o conteúdo de lipídeos, o desenvolvimento de tecnologias de colheita e secagem da biomassa algal energeticamente eficientes, visando diminuir custos. Infelizmente, o cultivo de microalgas e seus bioprodutos são atrelados a alto custo de operação e extração destes bioprodutos. Levando-se em conta que a extração por solventes orgânicos é a mais utilizada na produção de biodiesel, grande atenção deve ser dada ao descarte destes solventes no meio ambiente, sem prejudica-lo. Enfim, muitos desafios devem ser vencidos, mas pode-se observar que a viabilidade econômica e ambiental desta aplicação se encontra em evolução.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOMOHRA, A. E. et al. Microalgal biomass production as a sustainable feedstock for biodiesel : Current status and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 64, p. 596–606, 2016.

ADAM, F. et al. “Solvent-free” ultrasound-assisted extraction of lipids from fresh microalgae cells: a green, clean and scalable process. *Bioresource Technology*, 114 (2012) 457–465.

ALGAE. Disponível em: <<http://classroom.sdmesa.edu/eschmid/lecture11-microbio.htm>> Acesso em: 27 de outubro de 2016.

ALVARENGA, B. M.; SOARES, M. A. Potencialidade de produção de biodiesel por óleos e gorduras residuais na cidade de Itabira-MG. *Rev. Ceres, Viçosa*, v. 57, n.6, p. 721-729, 2010.

ARKRONRAT, W.; DEEMARK, P.; ONIAM, V. Growth performance and proximate composition of mixed cultures of marine microalgae (*Nannochloropsis* sp . & *Tetraselmis* sp.) with monocultures. v. 38, n. 1, p. 1–5, 2016.

ARRIADA, A. A. Cultivo de microalga marinha *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae) em água de produção de petróleo: viabilidade de crescimento, produção de lipídeos açúcares. Rio grande, agosto de 2014.

Aplicação biotecnológica das microalgas. Disponível em: <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/revistas/95/Microalgas95.asp>> Acesso em: 27 de outubro de 2016.

BAUMGARTNER, T. R. S. et al. Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. *Revista brasileira de biociências*, v. 11, n. 2, p. 250-255, 2013.

BRASIL BUSINESS REVIEW. Cultivo de microalgas para biodiesel inaugurado no RN. Líderes empresariais, 2012. Disponível em:

<<http://www.businessreviewbrasil.com.br/l%C3%ADderesempresariais/126/Cultivo-de-microalgas-para-biodiesel-inaugurado-no-RN>> Acesso em: 18 de novembro de 2016.

CELLANA. Cellana's Marine Algae Produce Healthy Nutritional Oils That Contain an Abundance of Omega-3s. Disponível em: <<http://cellana.com/products/renew-omega-3/>> Acesso em: 19 de novembro de 2016.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. v. 25, p. 294–306, 2007.

DERNER, R. et al. Microalgas, Produtos E Aplicações. *Ciência Rural*. 2006; 36:1959-67.

FERNÁNDEZ, C. G.; SIALVE, B.; BERNET, N.; STEYER J. P. Impact of microalgae characteristics on their conversion to biofuel. Part II: Focus on biomethane production. *Biofuels, Bioprod. Bioref.* v. 6, p. 205–218, 2012.

FRANCO, A. L. C. et al. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. *Química Nova*, v. 36, n. 3, p. 437-448, 2013.

HALIM, R. et al. Oil extraction from microalgae for biodiesel production. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 1, p. 178–185, 2011.

HALIM, R.; DANQUAH, M. K.; WEBLEY, P. A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnology Advances*, v. 30, n. 3, p. 709–732, 2012.

IVERSON, S. J. et al. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch Methods for Total Lipid Determination in a Broad Range of Marine Tissue Comparison of the Bligh and Dyer and Folch Methods for Total Lipid Determination in a Broad Range of Marine Tissue. n. October 2016, 2001.

LEE, J. et al. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technology*, 2010; 101:75-77.

LELIAERT, F. et al. Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 31, p. 1–46, 2012.

LEMOS, J. S. Desenvolvimento de sistema de tratamento e reciclagem de meio de cultivo de microalgas para produção de biodiesel. Curitiba, 2012. 30 p.

MADIGAN, M. T. et al. Microbiologia de Brock. 12ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MANIRAKIZA, P.; COVACI, A.; Schepens P. Comparative Study on Total Lipid Determination Using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods. *Jornal of Food Composition and Analysis*, p. 93-100, 2001.

MARIOT, S. C. et al. Operação de um filtro anaeróbio preenchido com espuma de poliuretano para remoção de matéria orgânica de efluente de uma indústria processadora de produtos cárneos. Ponta grossa, 2013.

MARONEZE, M. M. et al. A tecnologia de remoção de fósforo: Gerenciamento do elemento em resíduos industriais. *Revista Ambiente e Agua*, v. 9, n. 33, p. 445–458, 2014.

MEDIPALLY, S. et al. Microalgae as Sustainable Renewable Energy Feedstock for Biofuel Production. *Biomed Res Int*. 2015; 519513.

MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHRA, T. V. A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production. *Algal Research*, v. 7, p. 117–123, 2015.

MUSSGNUM, J. H. et al. Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *Journal of Biotechnology*, 2010; 150: 51-56.

OHSE, S.; DERNER, R. Produção de biomassa e teores de carbono , hidrogênio , nitrogênio e proteína em microalgas. n. October 2016, 2009.

PANOSSO, R. et al. Cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios do estado do Rio Grande do Norte e o potencial controle das florações pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Oecologia Brasiliensis*, 2007.

PENTEADO, D. D. A. “Uso dos teores de gordura em chocolate determinados por estudantes de ensino médio na universidade para elaboração de um método rápido, simples e verde: proposta com aspectos didáticos e analíticos”. 2013.

PEREZ, A. H.; LABBE, J. I. Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, v. 49, n. 2, p. 157-173, 2014.

PIASECKA, A.; KRZEMIŃSKA, I.; TYS, J. Physical methods of microalgal biomass pretreatment **. p. 341–348, 2014.

PINTO, S. I. D. Produção de biocombustíveis líquidos por pirólise seguida de hidrogenação de misturas de óleos vegetais num conceito de bio-refinaria. Lisboa, 2013.

PRAGYA, N.; PANDEY, K. K.; SAHOO, P. K. A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 24, p. 159–171, 2013.

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA, Casa Civil, 2005. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Lei/L11097.htm> Acesso em: 5 de outubro de 2016.

ROSENBERG, J. N. et al. A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Current opinion in biotechnology*, v. 19, p. 430-436, 2008.

SCHMIDT, C. J. B. Aislamiento, purificación y mantenimiento de cepas de microalgas. Capítulo 1, p. 8.

SESTON BIOTECNOLOGIA. Tecnologia. Disponível em: <<http://www.seston.com.br/pt/empresa/tecnologia.shtml>> Acesso em: 19 de novembro de 2016.

SHEEHAN, J. et al. A look back at the U.S. Department of Energy’s aquatic species program - Biodiesel from algae office of fuels development. *National Renewable Energy Laboratory*, v. 328, n. July, p. 1–328, 1998.

SILVA, D. A. Produção de biomassa de microalgas cultivadas em esgoto sanitário biodigerido visando a produção de biodiesel. Curitiba, 2014.

SILVA, G. S. Extração do óleo de microalgas para produção de biodiesel. Curitiba, 2013.

SONG, C. et al. Intensification of microalgae drying and oil extraction process by vapor recompression and heat integration. *Bioresource Technology*, v. 207, p. 67–75, 2016.

VALDEZ-OJEDA, R. et al. Characterization of five fresh water microalgae with potential for biodiesel production. *Algal Research*, v. 7, p. 33–44, 2015.

VIEIRA, J. G. et al. Influência da temperatura na remoção de fosfato por microalgas em biorreatores heterotróficos. *Revista Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*: v. 7, n. 2, 2012.