



# Tecnologia de **Biodiesel** **Microalgal**

Charlene Raquel de Almeida Viana

Ricardo Alan Verdú Ramos

Bruno Rafael de Almeida Moreira

Ronaldo da Silva Viana

Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo

Sérgio Bispo Ramos

**Atena**  
Editora  
Ano 2021

The background of the cover is a grayscale microscopic image of various microalgae cells. Some cells are in sharp focus, showing internal structures like chloroplasts and nuclei, while others are blurred in the foreground and background, creating a sense of depth. The cells are mostly spherical or oval in shape.

# Tecnologia de **Biodiesel** **Microalgal**

Charlene Raquel de Almeida Viana

Ricardo Alan Verdú Ramos

Bruno Rafael de Almeida Moreira

Ronaldo da Silva Viana

Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo

Sérgio Bispo Ramos

**Atena**  
Editora  
Ano 2021

**Editora Chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Assistentes Editoriais**

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto Gráfico e Diagramação**

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremona

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

**Imagens da Capa**

Shutterstock

**Edição de Arte**

Luiza Alves Batista

**Revisão**

Os Autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

**Conselho Editorial**

**Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Ivone Goulart Lopes – Instituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfnas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná

Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Linguística, Letras e Artes**

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí  
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais  
Prof. Me. Alexandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar

Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná  
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas  
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa  
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia  
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina  
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás  
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein  
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás  
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará  
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás  
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina  
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro  
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza  
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social  
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe  
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay  
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco  
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás  
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA  
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia  
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis  
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR

Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Livia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas  
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo  
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior  
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba  
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista



**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
**Bibliotecária:** Janaina Ramos  
**Diagramação:** Camila Alves de Cremo  
**Correção:** Vanessa Mottin de Oliveira Batista  
**Edição de Arte:** Luiza Alves Batista  
**Revisão:** Os Autores  
**Autores:** Charlene Raquel de Almeida Viana  
Ricardo Alan Verdú Ramos  
Bruno Rafael de Almeida Moreira  
Ronaldo da Silva Viana  
Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo  
Sérgio Bispo Ramos

## Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

T255 Tecnologia de biodiesel microalgal / Charlene Raquel de Almeida Viana, Ricardo Alan Verdú Ramos, Bruno Rafael de Almeida Moreira, et al. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Outros autores  
Ronaldo da Silva Viana  
Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo  
Sérgio Bispo Ramos

Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
Inclui bibliografia  
ISBN 978-65-5706-835-9  
DOI 10.22533/at.ed.359211902

1. Biocombustível 3G. 2. Centrifugação. 3. Chlorella sp.  
4. Lagoas superficiais amplas. 5. Fotobioreatores. I. Viana, Charlene Raquel de Almeida. II. Ramos, Ricardo Alan Verdú. III. Moreira, Bruno Rafael de Almeida. IV. Título.

CDD 662.88

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

**Atena Editora**

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

contato@atenaeditora.com.br

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>RESUMO</b> .....  | <b>1</b>  |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | <b>2</b>  |
| <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>3</b>  |
| BIOLOGIA E ECOLOGIA.....                                       | 3         |
| ASPECTOS: AMBIENTAIS, SOCIAIS E ECONÔMICOS .....               | 3         |
| Generalidades .....  | 3         |
| Biofixação de CO <sub>2</sub> .....                            | 4         |
| Ficoremediação de Efluentes.....                               | 5         |
| Segurança Alimentar e Qualidade de Vida.....                   | 5         |
| Biorrefinaria .....  | 6         |
| <b>CRESCIMENTO E METABOLISMO</b> .....                         | <b>9</b>  |
| <b>MODALIDADES DE CULTIVO</b> .....                            | <b>11</b> |
| FOTOAUTOTRÓFICA.....   | 11        |
| HETEROTRÓFICA.....   | 13        |
| MIXOTRÓFICA .....  | 15        |
| <b>SISTEMAS DE CULTIVO</b> .....                               | <b>17</b> |
| LAGOAS SUPERFICIAIS AMPLAS ( <i>OPEN RACEWAY PONDS</i> ) ..... | 17        |
| FOTOBIOREADORES .....  | 18        |
| Aagitador Mecânico ( <i>Stirred tank</i> ).....                | 19        |
| Tubular Vertical .....   | 19        |
| Coluna de Bolhas ( <i>Bubble Column</i> ).....                 | 19        |
| Elevação ( <i>Airlift</i> ).....                               | 21        |
| Tubular Horizontal .....                                       | 22        |
| Painel Plano ( <i>Flat Panel</i> ).....                        | 22        |
| Condições Operacionais em Escala Laboratorial.....             | 25        |
| HÍBRIDOS.....  | 27        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>MICROALGAS OLEAGINOSAS .....</b>  | <b>29</b> |
| ISOLAMENTO.....  | 29        |
| <i>Habitats</i> Naturais.....  | 30        |
| Efluentes Agroindustriais.....   | 30        |
| Ecossistemas Atípicos.....   | 30        |
| CULTURA <i>STOCK</i> .....   | 31        |
| SELEÇÃO .....  | 32        |
| Critérios .....  | 33        |
| IDENTIFICAÇÃO .....  | 39        |
| Análise Morfológica e Sequenciamento Genético.....                                   | 39        |
| Fluorocromo, Cromatografia Gasosa e Espectrofotometria de Massa .....                | 40        |
| <i>Nile Red</i> .....  | 40        |
| <i>BODIPY</i> .....  | 41        |
| Plasma .....   | 42        |
| APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS.....  | 42        |
| <b>CULTIVO SUSTENTÁVEL.....</b>  | <b>48</b> |
| EFLUENTES E RESÍDUOS SÓLIDOS.....  | 48        |
| SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO BIOENERGÉTICA.....                                   | 51        |
| <b>INDUÇÃO DE SÍNTESE DE LIPÍDEOS .....</b>  | <b>53</b> |
| NUTRIÇÃO .....   | 53        |
| ILUMINAÇÃO ARTIFICIAL .....  | 54        |
| CICLO FOTOPERIÓDICO.....   | 54        |
| TEMPERATURA .....  | 55        |
| PH .....   | 55        |
| SUBSTÂNCIAS: QUÍMICAS, ORGÂNICAS E BIOLÓGICAS .....                                  | 55        |
| <b>TÉCNICAS DE COLHEITA DE BIOMASSA, PRÉ-TRATAMENTO E EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS .....</b> | <b>57</b> |
| COLHEITA.....  | 57        |
| Centrifugação .....  | 57        |

|  |            |
|--|------------|
| Floculação .....                                     | 59         |
| Biofloculação .....                                  | 61         |
| <b>PRÉ-TRATAMENTO</b> .....                          | <b>64</b>  |
| Irradiação de Micro-ondas.....                       | 64         |
| Ozonização.....                                      | 65         |
| Ultrasonicação.....                                  | 66         |
| Hidrólise Enzimática.....                            | 66         |
| <b>EXTRAÇÃO</b> .....                                | <b>67</b>  |
| Solventes Orgânicos .....                            | 67         |
| Bligh e Dyer .....                                   | 67         |
| Folch e Folch-Bligh e Dyer .....                     | 68         |
| Solventes Superiores .....                           | 68         |
| Solventes Eutéticos.....                             | 69         |
| Líquidos Iônicos e Fluidos Supercríticos.....        | 70         |
| Não-solventes e Processos Mecânicos.....             | 71         |
| Transesterificação Supercrítica <i>In Situ</i> ..... | 71         |
| <b>TRANSESTERIFICAÇÃO</b> .....                      | <b>72</b>  |
| <b>REAÇÃO</b> .....                                  | <b>72</b>  |
| <b>ROTAS CATALÍTICAS</b> .....                       | <b>72</b>  |
| Catálise Alcalina .....                              | 72         |
| Catálise Ácida.....                                  | 74         |
| <b>QUALIDADE DE BIODIESEL</b> .....                  | <b>75</b>  |
| PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS .....                        | 75         |
| PROPRIEDADES ENERGÉTICAS.....                        | 78         |
| <b>CONSIDERAÇÕES</b> .....                           | <b>82</b>  |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....                             | <b>84</b>  |
| <b>SOBRE OS AUTORES</b> .....                        | <b>104</b> |

## RESUMO

A biomassa microalgal é multifuncional à industrialização de biocombustíveis, alimentos funcionais e químicos finos. Colhê-la e processá-la, para extração de carboidratos, lipídeos e, ou, proteínas, é, todavia, oneroso. Hiperacumuladores de materiais graxos, modos e sistemas de cultivo, métodos de colheita de biomassa e extração de lipídeos, e qualidade de biodiesel de terceira-geração são, portanto, os tópicos deste livro. Microalgas crescem, autotrófica, heterotrófica e, ou, mixotroficamente, em habitats diversos. A produtividade de biodiesel de autótrofos, heterótrofos e mixotróficos, em fotobioreatores, tubulares verticais e horizontais e planos, é, respectivamente: 10–250, 80–7400 e 90–250 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Os principais filós de hiperacumuladores de lipídeos são: *Bacillariophyta*, *Charophyta*, *Chlorophyta* e *Ochrophyta*. As espécies de *Chlorella* sp., *C. vulgaris*, *C. saccharophila*, *C. minutissima*, *C. sorokiniana*, *C. ellipsoidea*, *C. zofingiensis*, *C. pyrenoidosa* e *C. protothecoides*, são excelentes opções à biorrefinaria. Condições de estresse, principalmente, controle de disponibilidade de nutrientes, induzem síntese de lipídeos. Privação nitrogenada, especificamente, altera dinâmica de carbono e, conseqüentemente, condicionam a célula ao anabolismo de lipídeos, ao invés de proteínas e carboidratos, concentrando-os. Colheita de biomassa e extração de lipídeos são dispendiosos, economicamente, e prejudiciais ao meio ambiente e qualidade de vida social, pois, eventualmente, emitem substâncias tóxicas. Há, portanto, urgência em otimizá-los e torná-los sustentáveis. Propostas à centrifugação e solventes orgânicos, regulares em escala industrial, incluem, respectivamente: floculação, filtração, flotação, sedimentação e imobilização; e transesterificação *in situ*, líquidos iônicos e supercríticos. O biodiesel microalgal é, preferencialmente, sintetizado por transesterificação alcalina. A qualidade de produto é, essencialmente, influenciada pelo perfil de ácidos graxos: as cadeias carbônicas, C<sub>12</sub> e C<sub>18</sub>, saturadas e insaturadas, possibilitam valores de cetanagem, saponificação, viscosidade cinemática, densidade e ponto de fulgor ou inflamação de 47–57, 198,9–199 mg KOH g<sup>-1</sup>, 3–5,6 mm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, 0,86–0,96 g cm<sup>-3</sup> e 110–155 °C, respectivamente, aceitáveis ao mercado global.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biocombustível 3G, centrifugação; *Chlorella* sp., lagoas superficiais amplas; fotobioreatores.

# ABSTRACT

## TECHNOLOGY OF MICROALGAL BIODIESEL

(Micro)algal biomass is suitable for biofuels, functional food and fine chemicals. However, its harvesting and processing for recovery of carbohydrates, lipids and proteins make total cost of production expensive. Oil-hyperaccumulating species, cultures and systems of cultivation, methods of harvesting and extraction of lipids, and quality of product are accordingly the topics of this e-book. Microalgae can be autotroph, heterotroph and mixotroph for their habit of growth and development. Productivity of biodiesel by culturing autotroph, heterotroph and mixotroph in photobioreactors, whether horizontal and vertical tubular and flat panel, is 10-250, 80-7400 and 90-250 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectively. *Bacillariophyta*, *Charophyta*, *Chlorophyta*, and *Ochrophyta*, sound as the main phyla of oily-hyperaccumulating microalgae. The species of *Chlorella* sp., *C. vulgaris*, *C. saccharophila*, *C. minutissima*, *C. sorokiniana*, *C. ellipsoidea*, *C. zofingensis*, *C. pyrenoidosa*, and *C. protothecoides*, are all great options to biorefinery. Stresses, such as the control of availability of nutrients, induce synthesis of lipid by microalgae. Much of species under starvation of nitrogen rather produce lipids, than store carbohydrates and proteins. The tasks of harvesting and processing of oily matter can be expensive, and detrimental to the environment and society. Development of strategies to ensure these processes are sustainable is, therefore, an urgent matter. Flocculation, filtration and flotation are the eventual replacements for the centrifugation; while the transesterification *in situ*, ionic and supercritical liquids are substitutes to organic solvents, which are regular on an industrial scale. The main pathway of making third-generation biodiesel is transesterification. The product's quality depends on the profile of fatty acids. The carbon chains, C<sub>12</sub> and C<sub>18</sub>, enable the microalgal biodiesel to values of cetane, saponification, cinematic viscosity, density, and flashing point of 47–57, 198.9–199 mg KOH g<sup>-1</sup>, 3–5.6 mm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, 0.86–0.96 g cm<sup>-3</sup>, and 110–155 °C, respectively. These properties are acceptable at the global market.

**KEYWORDS:** 3G biofuel; centrifugation; *Chlorella* sp.; open raceway ponds; photobioreactors.

# INTRODUÇÃO

## BIOLOGIA E ECOLOGIA

Microalgas são organismos fitoplanctônicos unicelulares, ou coloniais, predominantemente, fotossintéticos: os pigmentos, astaxantina, carotenoide, clorofila, ficobilina e ficocianina, típico em cianofíceas e, eventualmente, rodofíceas, são indispensáveis à autotrofia e, oportunamente, categorização fenotípica e aplicação biotecnológica. Embora a maioria das espécies catalogadas, cientificamente, seja fotoautotrófica, há indivíduos heterotróficos, caracterizados pela habilidade inata de converter carbono orgânico em energia metabólica funcional à síntese de moléculas essenciais à bioquímica, fisiologia e resistência genética antimicrobiana (SINGH; SINGH, 2014).

As classes taxonômicas, bacilariofícea, cianofícea, clorofícea, crisofícea, feofícea e rodofícea, representadas por diatomáceas, cianobactérias, e microalgas verdes, douradas, marrons e vermelhas, respectivamente, importantes, ecológica e economicamente, habitam inestimáveis ecossistemas aquáticos naturais, dulcícolas e marinhos; existem, inusitadamente, colonizadores edáficos, cavernícolas, rupícolas, desérticos e termotolerantes. Biodiversidade e irrestrita adaptabilidade fisiográfica possibilitam exploração comercial em sistema de lagoas superficiais amplas e, ou, fotobioreatores, *indoor* ou *outdoor* (GHIMIRE *et al.*, 2017; GUPTA; LEE; CHOI, 2015; MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2015; SINGH; SINGH, 2014).

## ASPECTOS: AMBIENTAIS, SOCIAIS E ECONÔMICOS

### Generalidades

Matrizes energéticas integradas, majoritariamente, por recursos exauríveis são insustentáveis. B combustíveis de terceira geração (Figura 1) são, portanto, promessas ao petróleo, gás natural e carvão mineral, ofensivos à qualidade de vida social e meio ambiente. Complementarmente ao inigualável potencial de produção de biodiesel, bioetanol, biohidrogênio e biogás, microalgas sintetizam ácidos graxos de cadeia longa, antibióticos, aminoácidos, esteróis e pigmentos, bioprodutos valorizados pelas indústrias: alimentícia, farmacêutica, cosmética e têxtil. A exploração culinária de biomassa desidratada é realidade em países europeus; biopolímeros, químicos finos, estabilizantes, espessantes, blocos construtores, biolubrificantes, biofertilizantes *etc.* prolongam a invejável lista de pluralidades econômicas oferecidas pela biorrefinaria de microalga (RAMESH KUMAR *et al.*, 2018; SINGH; SINGH, 2014; YEN *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2018).



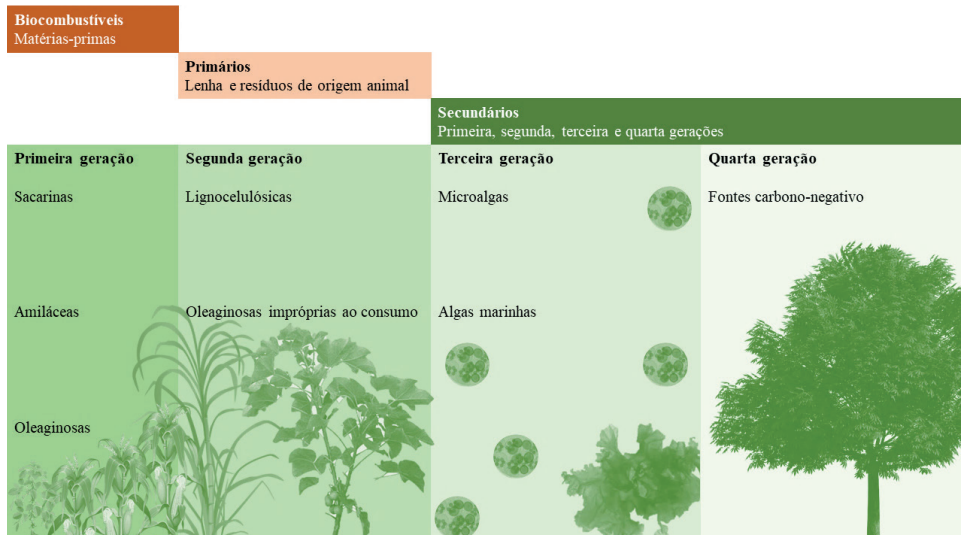


Figura 1. Categorias de biocombustíveis

Fonte: Elaborado pelo autor.

O biodiesel de microalga é atóxico, biodegradável e neutro à emissão de particulados sulfurados, candidatando-se, portanto, à substituição gradativa de diesel mineral, derivado de indústria petroquímica, degradante ao meio ambiente. Incomparáveis capacidade de fitorremediação de sítios contaminados por metais pesados e, ou, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, eficiência fotossintética de biofixação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) atmosférico e aplicabilidade à reciclagem de gás de combustão são benefícios complementares de ficologia à natureza, sociedade e economia (CHAUDHARY *et al.*, 2014; MOHD-SAHIB *et al.*, 2017; SINGH; SINGH, 2014; VELJKOVIĆ; BANKOVIĆ-ILIĆ; STAMENKOVIĆ, 2015).

## Biofixação de CO<sub>2</sub>

Extração e consumo irracionais de recursos fósseis, principalmente, petróleo, compartilham gravíssimos problemas socioambientais: complicações clínicas – agudas e crônicas –, extermínio de biodiversidade, emissão de gases de efeito estufa *etc.* Microalgas são estratégias biotecnológicas revolucionárias à mitigação de aquecimento global, pois fixam CO<sub>2</sub>, eficientemente, transformando-o, bioquimicamente, em biomassa utilíssima à terceira geração de biocombustíveis alternativos à resolução parcial de crise energética mundial. A produção de 1 t de biomassa importa, aproximadamente, 1,85 t de CO<sub>2</sub> atmosférico. Especialistas as qualificam como políticas à consolidação de **Agricultura Carbono Neutro** e concessão de linhas de crédito de carbono a empresas, legalmente, certificadas pela comprovada redução de emissão de gases de efeito estufa. Registrem-se, portanto, oportunidades de negócio oferecidas pelo imbatível potencial de sequestro de CO<sub>2</sub> de microalgas, fontes carbono-negativo cogitadas, inclusive, à quarta geração

de biocombustíveis (GE *et al.*, 2017; GREENWELL *et al.*, 2010; MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2015; PANDIT; FULEKAR; KARUNA, 2017; SUN *et al.*, 2014; SUTHAR; VERMA, 2018, **grifo nosso**).

A produção de biodiesel de microalga, empregando-se efluente e, ou, gás de combustão, ao invés de água-doce e, ou, CO<sub>2</sub> comercial, insumo antieconômico, aliviaria prováveis impactos ambientais ocasionados pela disposição de resíduos em ecossistemas aquáticos naturais, eutrofizando-os, irredutivelmente, e emissão de gases de efeito estufa à atmosfera, prevenindo-se, oportunamente, a camada de ozônio de monóxido de carbono (CO), metano (CH<sub>4</sub>), óxido nitroso (NO<sub>x</sub>) e enxofre (S<sub>x</sub>). Complementarmente, o manejo nutricional de cultivo, aplicando-se sólidos co-digeridos, aeróbica ou anaerobicamente, à biofertilização de células, impossibilitaria eventuais agravantes que estes provocariam, se descartados, negligentemente, à natureza, e conteria, indiretamente, o volume físico de CO<sub>2</sub> emitido pela indústria de fertilizantes minerais, passivos onerosos à biorrefinaria (CHEIRSILP; THAWECHAI; PRASERTSAN, 2017; MENESES-REYES *et al.*, 2018).

### **Ficoremediação de Efluentes**

A produção de 1 kg de biomassa de microalga consome, impressionantemente, 3.725 kg de água-doce. A integração de cultivo comercial à ficoremediação de efluente economizaria, portanto, custos e impactos ambientais associados a estações de tratamento de água e esgoto convencionais, e dispensaria adoção de água-doce, preservando-a, primordialmente, como recurso natural (DENG *et al.*, 2018; SALAMA *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2011).

Efluentes são problemáticos à natureza: se geridos, irresponsavelmente, provocam catástrofes. Portanto, exigem cautela e tratamento sistematizado à minimização de contaminantes nocivos à fauna e flora. Ricos em nitrogênio (N) e fósforo (P), elementos minerais cruciais à produção de biomassa e lipídeos, estes oferecem possibilidade de cultivo sustentável, que os reciclariam, transformando-os, então, em matéria-prima, tecnicamente, aplicável à transesterificação de biodiesel e refino de bioprodutos de valor agregado. Avaliação de ciclo de vida de planta industrial de microalga comprova: substituição de água-doce por efluente reduz, categoricamente, o custo total de produção de biomassa (CALIXTO *et al.*, 2016; DENG *et al.*, 2018; KOTHARI *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2015; LAL; DAS, 2016).

### **Segurança Alimentar e Qualidade de Vida**

Contempladas, universalmente, pelo acelerado crescimento, rusticidade genética, ótimo perfil de ácidos graxos e implacável produtividade de biodiesel, microalgas permitem cultivo em ambientes hostis, improváveis à agricultura sustentável, isentando-se, portanto, de competição com culturas alimentares por zonas férteis. Integralmente aos benefícios oferecidos à segurança alimentar, comprometida, parcialmente, pelo redirecionamento de óleos vegetais comestíveis à industrialização de biodiesel, microalgas metabolizam astaxantina, ficocianina e ficobilina, pigmentos detentores de propriedades terapêuticas, enfatizando-se: antibiótica, antiviral, antioxidante, anticarcinogênica, antiolesterol, antitumoral *etc.* (GUMBI *et al.*, 2017; MORALES-SÁNCHEZ; MARTINEZ-RODRIGUEZ; MARTINEZ, 2017).

A clorofíceia, *Chlorella vulgaris*, particularmente, é, nutricionalmente, rica em  $\omega$ -3, ácido graxo abundante em espécies piscícolas, indispensável ao organismo humano. Além de produzirem alimentos funcionais e biofármacos, microalgas colaboram, excepcionalmente, à melhoria de qualidade de vida terráquea pela biodepuração de ecossistemas contaminados por metais pesados e, ou, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos – carcinogênicos e teratogênicos de combustão incompleta de petróleo e carvão mineral, plenamente. Embora polêmico, o consumo deliberado de derivados de biomassa contaminada, processada, industrialmente, é irrestrito, desde que o nível de ingrediente ativo não extrapole o limite crítico estabelecido por autoridades regulatórias (RAMSUNDAR *et al.*, 2017; SKJÅNES; REBOURS; LINDBLAD, 2013; UNC *et al.*, 2017).

## Biorrefinaria

A partir da Revolução Industrial, o consumo energético global progride, geometricamente, devido, principalmente, ao desenfreado crescimento populacional. As principais fontes de energia exploradas, desde então, são fósseis, ordenadamente: petróleo, gás natural e carvão mineral. Estes recursos são, inquestionavelmente, fundamentais ao desenvolvimento econômico mundial; dependência de petróleo é realidade em nações periféricas. A instabilidade do mercado de combustíveis fósseis é, todavia, calamitosa. O ritmo de exploração de petróleo é superior, em relação à taxa de reposição natural; por isso, projetam-se sessenta anos ao esgotamento de jazidas. **Bicombustíveis tecnológicos prometem revolucionar a Matriz Energética Global** (DRIRA *et al.*, 2016; GUMBI *et al.*, 2017; HEO *et al.*, 2017; MARANDUBA *et al.*, 2016; PANDIT; FULEKAR; KARUNA, 2017; WAN GHAZALI *et al.*, 2015; XAALDI KALHOR *et al.*, 2016, **grifo nosso**).

O biodiesel, análogo químico imediato ao diesel mineral, é, convencionalmente, sintetizado por transesterificação, ou esterificação, de óleos vegetais comestíveis e impróprios ao consumo humano, derivados de soja, canola, girassol, algodão, pinhão-manso, palma-forrageira *etc.*, gordura animal e resíduo de fritura. Há, entretanto, melhores opções: microalgas oleaginosas, absurdamente, produtivas. Os principais argumentos, em relação à aplicação de microalgas à produção de biodiesel, são, assertivamente: alta eficiência fotossintética e acelerado ritmo de crescimento específico; elevados rendimentos e continuidade de colheita de biomassa e lipídeos; possibilidade de cultivo em regiões inóspitas à agricultura, porém viáveis à implementação de biorrefinaria; surpreendentes potenciais de biofixação de CO<sub>2</sub> atmosférico e tratamento de gás de combustão; e economia de recursos hídricos naturais pelo reaproveitamento de águas residuais (ARCHANAA *et al.*, 2019; EL SHIMI; MOUSTAFA, 2018; ELLISON; OVERA; BOLDOR, 2019; GIRALDO CALDERÓN; DÍAZ BAYONA; ATEHORTÚA GARCÉS, 2018; MALCATA, 2011; MARANDUBA *et al.*, 2016; TÛCCAR; AYDIN, 2013; WAHLEN *et al.*, 2013; XAALDI KALHOR *et al.*, 2016; YEN *et al.*, 2013; ZHU *et al.*, 2017).

Pesquisas em microalgas progridem, irreversivelmente, em direção à biorrefinaria, conceito de fábrica flexível fundamentado em aplicação de tecnologias à conversão fracionada de biomassa em biocombustíveis – biodiesel, bioetanol, biobutanol, bio-óleo, biohidrogênio, biogás *etc.* –, químicos finos – ácido succínico, propanodiol, poliésteres, ácido láctico *etc.* – e bioprodutos de valor agregado, destacando-se: polissacarídeos, polipeptídios, pigmentos, antibióticos e ácidos graxos de cadeia longa, principalmente,

oleico e linoleico (Figura 2).

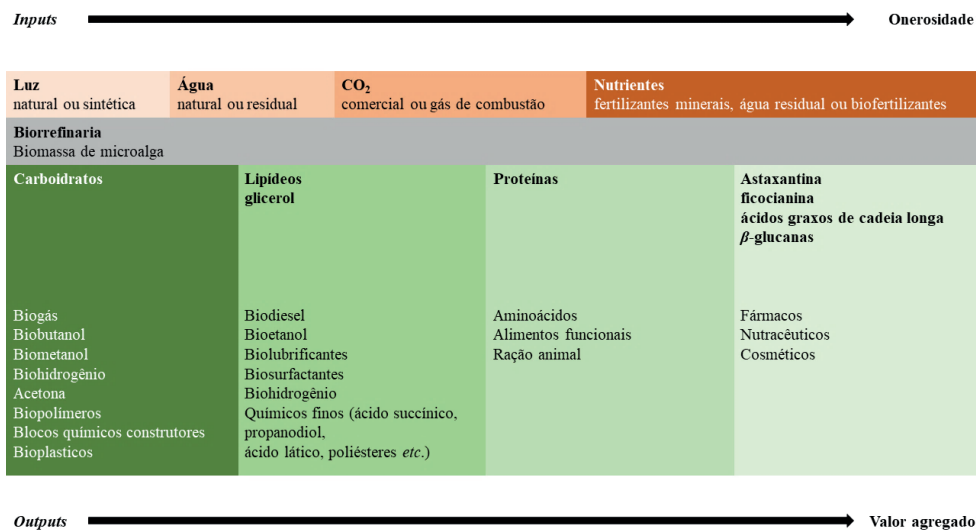


Figura 2. Esquematização de *inputs* e *outputs* de biorrefinaria de microalga

Fonte: Elaborado pelo autor.

Suplementária a processos ordinários, digestão aeróbica de biomassa residual gera metano enriquecido ou bio-hitano, terminologia designada ao biocombustível gasoso composto por metano e hidrogênio. Este recurso sustentável é excelente condutor energético e emite limitado volume de gases de efeito estufa, comparado ao petróleo e gás natural. Há, interessantemente, possibilidade de convertê-lo em eletricidade por célula de carga e aplicá-lo, alternativamente, à alimentação de motor de combustão interna, devido às incomparáveis eficiência energética e pureza. O bio-hitano é, absolutamente, eficaz ao abastecimento interno de biorrefinaria, tornando-a independente de energia fóssil. O excedente é, estrategicamente, destinado ao setor de transporte; Estados Unidos e República Popular da China, potências mundiais, são os principais adeptos, concentrando-o ao abastecimento de automóveis pesados (CAVINATO *et al.*, 2012; CHEIRSILP; THAWECHAI; PRASERTSAN, 2017; FRANCO TRABUCCO *et al.*, 2011; GHIMIRE *et al.*, 2017; GUPTA; LEE; CHOI, 2015; MANDIK *et al.*, 2015; ROY; DAS, 2016; UMMALYMA *et al.*, 2017; UNTERLANDER; CHAMPAGNE; PLAXTON, 2017; XIA *et al.*, 2016).

A biomassa residual é, além de tudo, reaproveitável à biofertilização de rizicultura e fabricação de rações proteicas alternativas à piscicultura, avicultura e bovinocultura leiteira, empreendimentos pecuários geradores de divisas. Finalidades complementares predizem: produção de bioetanol, bioplásticos, biopolímeros e *pellets*, que, particularmente, detém poder calorífico superior e teor de cinzas residuais satisfatórios aos padrões internacionais de qualidade. Multiplicidade de aplicações biotecnológicas e benefícios socioambientais

valorizam, portanto, a biorrefinaria de microalga, candidato em potencial ao fornecimento, regular e onidirecional, de produtos aos setores econômicos: automobilístico, alimentício, farmacêutico, têxtil e agropecuário (ALVAREZ *et al.*, 2016; BABA *et al.*, 2013; ELMEKAWY *et al.*, 2014; LAL; DAS, 2016).

# CRESCIMENTO E METABOLISMO

Evoluídas há séculos, microalgas crescem autotrófica, heterotrófica e, ou, mixotroficamente, em habitats diversos. Dióxido de carbono, radiação solar, fotoperíodo, temperatura, pH, oxigênio, salinidade, nutrientes, micróbios *etc.* são condicionantes à produtividade de biomassa e síntese de lipídeos; CO<sub>2</sub> é, inquestionavelmente, o principal fator limitante. Ecossistemas aquáticos naturais são, genuinamente, hipoconcentrados em dióxido de carbono. Portanto, a maioria das espécies possui mecanismos fisiológicos adaptativos, especializados em assimilá-lo, eficazmente. Comercialmente, o suprimento controlado de CO<sub>2</sub> impulsiona taxa de crescimento específico e tempo de duplicação celular, pois favorece a fotossíntese líquida. Capacidade de biofixação e tolerância ao CO<sub>2</sub> são características intrínsecas (DENG *et al.*, 2018; MA *et al.*, 2015, 2016; NDIMBA *et al.*, 2013; SINGH; SINGH, 2014; SU *et al.*, 2011; WONG *et al.*, 2017).

À análise de crescimento e concentração de biomassa, aplica-se, geralmente, o modelo logístico (Eq. 1):

$$X = \frac{X_{\max}}{1 + e^{-m\mu T}} \quad (1)$$

Em que:

X: concentração de biomassa, g L<sup>-1</sup>;

X<sub>max</sub>: máxima concentração hipotética de biomassa ou capacidade de suporte, g L<sup>-1</sup>;

m: constante;

μ: taxa de crescimento específico, dia<sup>-1</sup>;

T: tempo de cultivo, dias.

A taxa de crescimento específico, definida, algebricamente, pela expressão (Eq. 2), é critério ponderável à seleção de espécies à produção de biodiesel (CHOI; JANG; KAN, 2018; DENG *et al.*, 2018; WONG *et al.*, 2017).

$$\mu = \ln \left( \frac{x_j - x_i}{t_j - t_i} \right) \quad (2)$$

Em que:

x<sub>i</sub>: densidade ótima de células em tempo t<sub>i</sub>, μg L<sup>-1</sup>;

x<sub>j</sub>: densidade ótimo de célula em tempo t<sub>j</sub>, μg L<sup>-1</sup>.

O metabolismo autotrófico ocorre em etapas complementares: em fotodependência, ou fase fotoquímica, há conversão de energia luminosa ou física em adenina trifosfato (ATP) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP), moléculas fundamentais à cascata de reações do Ciclo de Calvin; em fotoindependência, ou fase bioquímica, a substância orgânica, ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP), associa-se ao CO<sub>2</sub> fixado, fotossinteticamente, e produz ácido 3-fosfoglicérico (3-PGA), precursor de glicose. Por isso, a relevância de ciclo fotoperiódico à produção comercial e qualidade de biodiesel de microalga. O comportamento fisiológico é determinado por hábito de crescimento (Figura 3) (CHAUDHARY *et al.*, 2014).

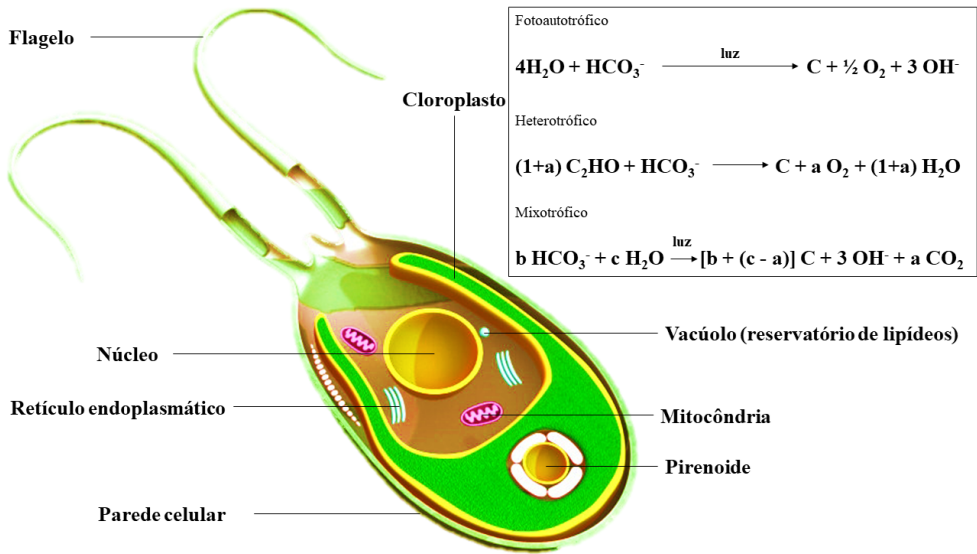


Figura 3. Estrutura celular e metabolismo de microalga pelo hábito de crescimento  
CHOJNACKA; MARQUEZ-ROCH, 2004.

A versatilidade metabólica de microalga permite manipulação de concentração intracelular de lipídeos, controlando-se condições de cultivo, pontualmente: oferta nutricional, pH, taxa de injeção de  $\text{CO}_2$ , intensidade e qualidade de iluminação, ciclo fotoperiódico e temperatura (GHIMIRE *et al.*, 2017; KANDILIAN *et al.*, 2014).

# MODALIDADES DE CULTIVO

Microalgas são, unanimemente, cultivadas sob iluminação, natural ou sintética, nutrindo-se de carbono inorgânico ou orgânico, minerais e, ocasionalmente, vitaminas. A espécie, *C. vulgaris*, particularmente, cresce em condições fotoautotrófica, fotoheterotrófica, heterotrófica e mixotrófica; *C. protothecoides*, *C. sorokiniana*, *Chlamydomonas debaryana* se adaptam, naturalmente, à fotoautotrofia, heterotrofia e mixotrofia, enquanto *Selenastrum capricornutum* e *Scenedesmus acutus* se multiplicam fotoautotrófica, fotoheterotrófica ou heterotroficamente, devido à inabilidade adaptativa. As principais modalidades de cultivo são, resumidamente: fotoautotrófica, heterotrófica e mixotrófica (GHIMIRE *et al.*, 2017; YEH; CHANG, 2012).

## FOTOAUTOTRÓFICA

O cultivo fotoautotrófico emprega luz e carbono inorgânico à multiplicação celular. Esta condição é, comercialmente, atrativa, pois representa possibilidade de sequestro de CO<sub>2</sub> e reaproveitamento de gás de combustão, passivo industrial. Escalabilidade e limitado risco de contaminação microbiana, devido à inexistência de substrato orgânico, capacitam-na à produção em larga escala de biodiesel (AMARO; GUEDES; MALCATA, 2011). Aparentemente, a principal desvantagem, em relação ao heterotrófico e mixotrófico, é o limitado rendimento produtivo de biomassa, justificado, parcialmente, pela fotoinibição, fenômeno que satura disponibilidade de luz à etapa final de crescimento celular (Tabela 1).

| Condição de cultivo | Fonte de carbono                                     | Fonte de energia               | Nível de produtividade |
|---------------------|--|--------------------------------|------------------------|
| Fotoautotrófica     | CO <sub>2</sub> e, ou, HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | Luz                            | Baixo                  |
| Heterotrófica       | Glicose  | Glicose                        | Alto                   |
| Mixotrófica         | CO <sub>2</sub> e glicose                            | Luz, CO <sub>2</sub> e glicose | Alto                   |

Tabela 1. Caracterização de condições de cultivo de microalgas  
WANG; YANG; WANG, 2014; XIA; MURPHY, 2016

Embora caracterizada pela restrita produtividade de biomassa, a condição fotoautotrófica dispensa o emprego de glicose, carboidrato primordial à indústria alimentícia, e proporciona equilíbrio ao perfil de ácidos graxos de biodiesel de *Chlorella sp.* (Tabela 2). Controversamente, a heterotrófica induz síntese de hidrocarbonetos insaturados, prejudiciais à qualidade de ignição e estabilidade oxidativa, parâmetro de qualidade decisivo ao armazenamento e transporte de biodiesel (ELUMALAI; PRAKASAM; SELVARAJAN, 2011; ILLMAN; SCRAGG; SHALES, 2000).



| Ácido graxo (%)   | Condição de cultivo |               |
|-------------------|---------------------|---------------|
|                   | Fotoautotrófica     | Heterotrófica |
| Propiônico        | 13,07               | 17,03         |
| Butírico          | -                   | 28,88         |
| Caprílico         | 5,53                | 10,37         |
| Cáprico           | 16,82               | 27,99         |
| Láurico           | 43,16               | 14,87         |
| Mirístico         | 21,83               | 0,82          |
| Hexadecatrienóico | 17,02               | 18,57         |
| Esteárico         | 21,73               | 18,02         |
| Ecosapentaenóico  | 25,54               | 17,89         |
| Docosa-hexaenóico | 35,80               | 45,49         |

Tabela 2. Perfil de ácidos graxos de éster metílico de *Chlorella sp.*, cultivado sob condições fotoautotrófica e heterotrófica

ELUMALAI; PRAKASAM; SELVARAJAN, 2011

A pesquisa científica de poder calorífico de espécies de *Chlorella sp.*, cultivadas, fotoautotroficamente, sob restrição nitrogenada, conduzida por Illman, Scragg e Shales (2000), constata: máximo rendimento de biodiesel de *C. protothecoides* de 20,00 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. A multiplicação celular de *C. vulgaris*, em fotobioreator tubular vertical, resulta 40,00 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (SCRAGG *et al.*, 2002). O estudo de produção e técnicas de colheita de biomassa, realizado por Lal e Das (2016), comprova que o cultivo fotoautotrófico de *Chlorella sp.* retorna consideráveis 250,00 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Note-se, portanto, a relevância de interação de condição de cultivo e espécie ao rendimento técnico e qualidade de biodiesel (Tabela 3).

| Microalga                  | Condição        | Produtividade (mgL <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ) | Referência                     |
|----------------------------|-----------------|--|--------------------------------|
| <i>C. protothecoides</i>   | Fotoautotrófica | 2,00–20,00   | Illman, Scragg e Shales (2000) |
| <i>C. emersonii</i>        | Fotoautotrófica | 40,00  | Scragg <i>et al.</i> (2002)    |
| <i>C. vulgaris</i>         | Fotoautotrófica | 180,00   | Gouveia e Oliveira (2009)      |
| <i>Nannochloropsis sp.</i> | Fotoautotrófica | 90,00  | Gouveia e Oliveira (2009)      |
| <i>C. vulgaris</i>         | Fotoautotrófica | 10,00  | Liang, Sarkany e Cui (2009)    |
| <i>S. obliquus</i>         | Fotoautotrófica | 60,00  | Mandal e Mallick (2009)        |
| <i>C. vulgaris</i>         | Fotoautotrófica | 105,00   | Yoo <i>et al.</i> (2010)       |
| <i>C. minor</i>            | Fotoautotrófica | 40,00  | Chatsungnoen e Chisti (2016)   |
| <i>Neochloris sp.</i>      | Fotoautotrófica | 80,00  | Chatsungnoen e Chisti (2016)   |
| <i>C. vulgaris</i>         | Fotoautotrófica | 70,00  | Chatsungnoen e Chisti (2016)   |
| <i>C. vulgaris</i>         | Fotoautotrófica | 70,00  | Chatsungnoen e Chisti (2016)   |
| <i>N. salina</i>           | Fotoautotrófica | 60,00  | Chatsungnoen e Chisti (2016)   |
| <i>C. fusiformis</i>       | Fotoautotrófica | 50,00  | Chatsungnoen e Chisti (2016)   |

|                          |                 |                   |                             |
|--------------------------|-----------------|-------------------|-----------------------------|
| <i>Chlorella sp.</i>     | Fotoautotrófica | 250,00            | Lal e Das, 2016)            |
| <i>Synechocystis sp.</i> | Fotoautotrófica | 140,00            | Lal e Das, 2016)            |
| <i>C. vulgaris</i>       | Heterotrófica   | 2.200,00–7.400,00 | Xiong <i>et al.</i> (2008)  |
| <i>C. vulgaris</i>       | Heterotrófica   | 80,00–150,00      | Liang, Sarkany e Cui (2009) |
| <i>S. obliquus</i>       | Mixotrófica     | 100,00–150,00     | Mandal e Mallick (2009)     |
| <i>C. pyrenoidosa</i>    | Mixotrófica     | 90,00–250,00      | Tan <i>et al.</i> , (2014)  |

Tabela 3. Produtividade de biodiesel de microalgas cultivadas sob condições fotoautotrófica, heterotrófica e mixotrófica

A produtividade fotoautotrófica é, obviamente, variável, devido a particulares de microalga, sistema, composição nutricional de meio, pH, intensidade e qualidade de iluminação, ciclo fotoperiódico, temperatura, duração de cultivo, técnica de colheita de biomassa, métodos de extração, recuperação e purificação de lipídeos, e rota tecnológica de transesterificação.

## HETEROTRÓFICA

A modalidade heterotrófica, alternativa imediata à fotoautotrófica, particulariza-se pela ausência de luz e aplicação de carbono orgânico à nutrição celular. Além de compensativa à fotoinibição, apresenta as vantagens: adequacidade a fotobioreatores tradicionais, facilidade de controle ambiental, insignificativo custo de colheita, devido à substancial produtividade de biomassa, e oportunidade de reaproveitamento de água residual de alta demanda bioquímica. Segundo Heredia-Arroyo *et al.* (2011), o cultivo heterotrófico garante, adicionalmente, melhores condições à biossíntese de lipídeos, comparado ao fotoautotrófico e mixotrófico (Figura 4).

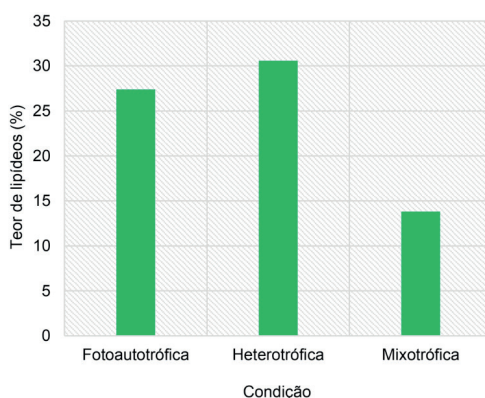


Figura 4. Teor de lipídeos de *C. vulgaris*, cultivada sob condições fotoautotrófica, heterotrófica e mixotrófica

HEREDIA-ARROYO *et al.*, 2011.

Em relação a bioprodutos, é excelente fornecedor de ácidos graxos de cadeia longa, principalmente, em diatomáceas, ficocianina, astaxantina e ficobilina, pigmentos fotoprotetivos à clorofila, valorizadíssimos pelas indústrias, alimentícia e cosmética. Por isso, qualifica-se à biorrefinaria de microalga. Apesar de atrativo, economicamente, associa-se a sérios inconvenientes: oneroso custo de aquisição de fonte de carbono orgânico, geralmente, glicose, e propensão à contaminação microbiana. Complementarmente, a maioria das linhagens comerciais é, metabolicamente, incompatível à heterotrofia; entretanto, há aquelas que crescem, satisfatoriamente, em fermentadores. Os principais requisitos de microalga à condição heterotrófica são, portanto: facultade de divisão celular e metabolismo ativo em ausência de luz, capacidade de multiplicação em meio composto por substratos orgânicos, adaptabilidade a flutuações ambientais e resistência mecânica a estresses hidrodinâmicos (CHEIRSILP; TORPEE, 2012; RAWAT *et al.*, 2013a).

O cultivo heterotrófico de *C. vulgaris*, aplicando-se hidrolisado vegetal, ao invés de glicose, intensifica produtividade de lipídeos e equilibra perfil de ácidos graxos de éster metílico (WANG *et al.*, 2013). Os autores atribuíram os resultados à taxa de utilização metabólica de açúcar e teor energético de *Cyperus sculentus*, e enfatizaram a importância comercial de alternativas sustentáveis à glicose, fonte de carbono orgânico antieconômica (Tabela 4). Há incipientes, porém conclusivas, pesquisas científicas a respeito de substituição de glicose pelos ácidos: acético, propiônico e butírico (DENG *et al.*, 2017; HU *et al.*, 2013).

| Variável  | Fonte de carbono orgânico |         |
|---|---------------------------|---------|
|   | Hidrolisado               | Glicose |
| Concentração de biomassa (g L <sup>-1</sup> )                   | 4,43                      | 1,85    |
| Produtividade de biomassa (mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ) | 1.110,00                  | 370,00  |
| Teor de lipídeos (%)  | 34,44                     | 22,89   |
| Produtividade de lipídeos (mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ) | 381,42                    | 84,69   |
| Taxa de utilização de açúcar (%)                                | 33,40                     | 18,35   |
| Rendimento de biomassa (mg mg <sup>-1</sup> )                   | 0,44                      | 0,31    |

Tabela 4. Cultivo heterotrófico de *C. vulgaris* em meios compostos por hidrolisado vegetal e glicose

WANG *et al.*, 2013

Considerando-se limitações associadas ao cultivo heterotrófico, Fan *et al.* (2012) propuseram o conceito heterotrófico-diluído-fotoindutivo. Fundamentada em oferta fracionada de carbono orgânico e indução de multiplicação celular por regulação sistemática de iluminação artificial, a tecnologia prediz otimização de rendimentos produtivos de proteínas, lipídeos e pigmentos, eficiência de controle de contaminação microbiana, e escalabilidade; entretanto, desfavorece o acúmulo de carboidratos, tornando-se, portanto, desinteressante à industrialização de bioetanol, biopolímeros, blocos químicos construtores *etc.* A hibridização de condições de cultivo, pretendendo-se solucionar problemas individuais

é, corriqueiramente, aplicada à ficologia. A mixotrofia, que contempla características fotoautotróficas e heterotróficas, é exemplo notável.

## MIXOTRÓFICA

O cultivo mixotrófico, caracterizado pela simultaneidade dos eventos, fotossíntese e respiração celular, é sustentado por CO<sub>2</sub>, carbono orgânico e nutrientes. Em lagoas superficiais amplas, particularmente, supre-se a demanda de carbono orgânico pela adição diurna de glicose e, ou, acetato, evitando-se descontrolada proliferação de células sob ausência de luz (PEREZ-GARCIA *et al.*, 2011; UNTERLANDER; CHAMPAGNE; PLAXTON, 2017).

A condição mixotrófica produz mais biomassa que a fotoautotrófica; todavia, é, circunstancialmente, superada pela heterotrófica, devido, dentre outras causas, à predisposição à contaminação (BRENNAN; OWENDE, 2010; GHIMIRE *et al.*, 2017). O estudo científico de melhoria de crescimento de microalga, considerando-se as fontes de variação, intensidade de iluminação, concentração de glicose e sistema de alimentação, conduzido por Cheirsilp e Torpee (2012), confirma maior rendimento de lipídeos em *Chlorella sp.* cultivada, mixotroficamente, 209,70 mg L<sup>-1</sup>, contra inexpressivos 89,90 e 83,30 mg L<sup>-1</sup>, relacionados à heterotrofia e fotoautotrofia, respectivamente.

De acordo com Yeh e Chang (2012), que avaliaram efeitos de condições e meios de cultivo em crescimento celular de *C. vulgaris*, a combinação de mixotrofia e *Bristol* proporciona maior produtividade de lipídeos, 143,90 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, enquanto a integração de fotoautotrofia e *BBM* (*Bold's Basal Medium*) favorece a síntese de ácido palmítico, fundamental à cetanagem, parâmetro de qualidade que traduz tempo de resposta de motor à ignição de biocombustível (Tabela 5). Sob a óptica dos autores, o cultivo mixotrófico é complexo, pois há inúmeros limitantes à produtividade de lipídeos e qualidade de biodiesel; equilibrá-lo é, indubitavelmente, desafiador.

| Condição          | Meio                | Produtividade (mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ) | Ácido graxo (%) |              |           |        |
|-------------------|---------------------|---|-----------------|--------------|-----------|--------|
|                   |                     |   | Palmítico       | Palmitoléico | Esteárico | Oleico |
| Fotoautotrófica   | <i>Bold's Basal</i> | 56,20   | 21,93           | 0,25         | 10,00     | 13,86  |
| Fotoheterotrófica | <i>Bold's Basal</i> | 69,00   | 16,44           | 2,13         | 14,92     | 3,65   |
| Mixotrófica       | <i>Bold's Basal</i> | 67,40   | 28,81           | 1,25         | 6,67      | 24,85  |
| Fotoautotrófica   | <i>Bristol</i>      | 40,20   | 17,91           | 0,18         | 10,96     | 5,66   |
| Fotoheterotrófica | <i>Bristol</i>      | 115,40  | 22,76           | 0,76         | 7,89      | 26,71  |
| Mixotrófica       | <i>Bristol</i>      | 143,90  | 28,80           | 0,66         | 6,21      | 32,88  |

Tabela 5. Produtividade de lipídeos e perfil de ácidos graxos de biodiesel de *C. vulgaris*, cultivada sob condições fotoautotrófica, fotoheterotrófica e mixotrófica

YEH; CHANG, 2012

Embora produtiva, a condição mixotrófica não reflete, necessariamente, qualidade, pois, eventualmente, predispõe microalgas à biossíntese de ácidos graxos livres, que, sob concentrações inapropriadas, inviabilizam a comercialização de biodiesel de terceira geração em mercados internacionais, principalmente, norte-americano e europeu, rigorosos.

# SISTEMAS DE CULTIVO

A ideia de cultivo de microalgas surgiu em 1952. Em 1960, japoneses a experimentaram, pioneiramente, em lagoa superficial ampla, sistematizada com ductos rudimentares que permitiam introdução compartimentada de inóculo e transferência de massa. Em 1970, Japão, Europa e Israel inauguraram, finalmente, plantas industriais, pretendendo-se produção de alimentos funcionais. Problemas técnicos associados à tradicionalidade motivaram, então, a engenharia de fotobioreatores. A tecnologia em questão é, superiormente, eficiente, em relação à produtividade e qualidade de biomassa; todavia, onerosos custos de investimento, instalação e manutenção a inviabilizam, economicamente, à produção comercial de biodiesel. Por isso, há necessidade de otimizá-la (ADESANYA *et al.*, 2014; GUPTA; LEE; CHOI, 2015; KIM *et al.*, 2017; KUMAR *et al.*, 2015; RAWAT *et al.*, 2013b; XIA *et al.*, 2013).

## LAGOAS SUPERFICIAIS AMPLAS (OPEN RACEWAY PONDS)

Os sistemas *outdoor* contemplam, basicamente: lagoas superficiais amplas e tanques artificiais. A produção em larga escala de biodiesel de terceira geração é, usualmente, praticada em lagoas, devido, principalmente, à facilidade e economia de custos de instalação e operação, fatores que compensam irregularidade de rendimento de biomassa e inapropriada qualidade de óleo. Limitado potencial de aquecimento global complementa a lista de vantagens. Todavia, há restrições, quanto à espécie: indivíduos tolerantes à salinidade, temperatura, CO<sub>2</sub>, contaminação microbiana *etc.* são preferíveis; ineficiência em transferência de massa, sensibilidade à evaporação e insustentabilidade à exploração de bioprodutos de valor agregado caracterizam desvantagens adicionais (GUPTA; LEE; CHOI, 2015; RODOLFI *et al.*, 2009).

A produtividade de biomassa de *C. variabilis*, cultivada em lagoa aberta, fluxo semi-contínuo, é equivalente a 5,78 g m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (DE BHOWMICK *et al.*, 2014). Os autores promoveram tratamento de água, previamente à inoculação, aplicando-se hipoclorito e, ou, tiosulfato de sódio, e mantiveram agitação mecânica a 15 rpm. Sharma *et al.* (2016) cultivaram *C. vulgaris* em lagoa aberta, fluxo semi-contínuo, e obtiveram valor, relativamente, inferior: 19,61 g m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. A variação de produtividade de biomassa é, absolutamente, natural, devido a condições de cultivo – espécie, qualidade de água, temperatura, radiação solar, fotoperíodo, nutrição *etc.* – e característica de engenharia: comprimento e profundidade são determinantes à difusão de gases e transferência de massa, e penetração de luz, respectivamente; por isso, recomenda-se relacioná-las, otimamente (GUPTA; LEE; CHOI, 2015; KUMAR *et al.*, 2015; MATHIMANI *et al.*, 2017; SHARMA *et al.*, 2016).

Os principais avanços associados ao sistema de lagoas amplas são, assertivamente: seleção e melhoramento genético de cepas selvagens, adequação geométrica de relação área superficial/volume de trabalho, otimização de sistemas de difusão de CO<sub>2</sub> e transferência de massa, manejo de geração de efluente pelo reaproveitamento de biomassa residual e equilíbrio nutricional de meio. Mathimani *et al.* (2017) implementaram, pertinentemente, água marinha e enriquecimento nutricional ao cultivo alternativo de microalgas em lagoa, pretendendo-se, justamente, melhorias à produtividade e qualidade de óleo para produção

de biodiesel. Os autores consolidaram a proposta, aerando-se o meio, mecanicamente, a 200 rpm, e colhendo-se biomassa, intermitentemente.

## FOTOBIOREATORES

Embora antieconômicos, em relação à investimento, operação e manutenção, fotobiorreatores – conceituados pelo emprego de luz à multiplicação celular – permitem rigoroso controle ambiental e incomparável produtividade de biomassa (Figura 5), restringem proliferação e residência prolongada de microrganismos depreciativos à qualidade de óleo, e possibilitam exploração industrial de químicos finos e bioprodutos de valor agregado; por isso, promovem-se à biorrefinaria de microalga (COLLET *et al.*, 2011; DIANURSANTI; SISTIAFI; PUTRI, 2018; GUPTA; LEE; CHOI, 2015; RAWAT *et al.*, 2013b; UNTERLANDER; CHAMPAGNE; PLAXTON, 2017; YEN *et al.*, 2013).

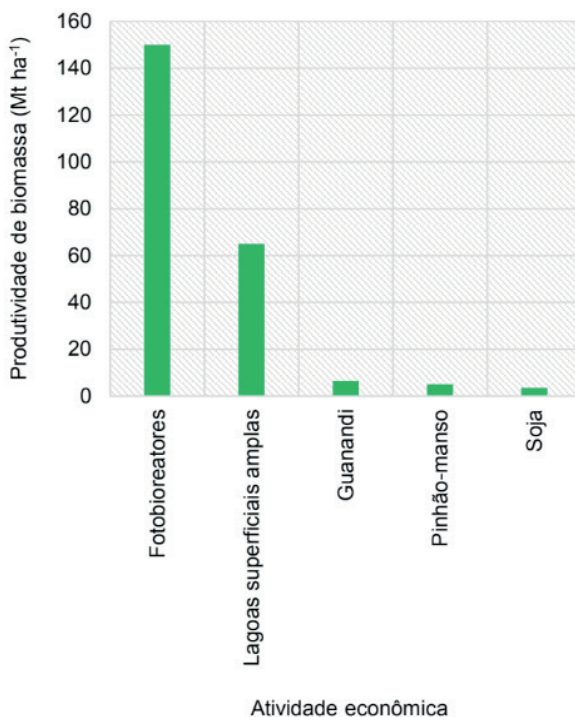


Figura 5. Produtividade relativa de biomassa de microalga cultivada em fotobiorreatores  
ADESANYA *et al.*, 2014; KHUDHAIR; FARID, 2004; RASHID *et al.*, 2014.

Fotobiorreatores tradicionais são compostos pelas fases, sólida (células), líquida (meio de cultivo) e gasosa ( $O_2$  e  $CO_2$ ), e campo de radiação de luz. À categorização, consideram-se: configuração de superfície de exposição à luz, plana, tubular e colunar,

e fluxo, agitador mecânico, coluna de bolhas e elevação (ERIKSEN, 2008; GUPTA; LEE; CHOI, 2015; MOLINA *et al.*, 2001; POSTEN, 2009; SIERRA *et al.*, 2008; SLEGERS *et al.*, 2011; WANG; LIU; LIU, 2015).

### Agitador Mecânico (*Stirred tank*)

Integrado, principalmente, por sistema central de agitadores mecânicos, conjunto de defletores e alimentador de CO<sub>2</sub>, esta tecnologia é, razoavelmente, vantajosa à transferência de massa, homogeneização de meio e dispersão de luz. Em média, 70 a 80 % do volume interno é preenchido por líquido, enquanto a fração remanescente, ocupada por gases e substrato (Figura 6). As principais desvantagens são: dificuldade de colheita de biomassa, devido à baixa relação área superficial/volume de trabalho, substancial requerimento energético e onerosidade de custos de operação e manutenção. Dispositivos de oxigenação e modernização de impulsores e agitadores são necessidades tecnológicas imediatas (GUPTA; LEE; CHOI, 2015).

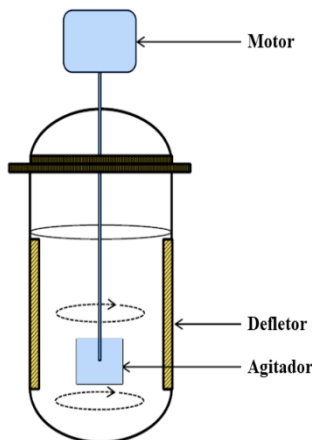


Figura 6. Esquemática de fotobioreator de agitação mecânica  
GUPTA; LEE; CHOI, 2015.

### Tubular Vertical

Constituído por ductos verticais transparentes, que permitem completa penetração de luz, e sistema de recirculação de células por introdução controlada de ar comprimido, esta tecnologia é adequada para sistemas de cultivo *outdoor*. O fluxo operacional a ramifica em: coluna de bolhas e elevação.

#### *Coluna de Bolhas (Bubble Column)*

Alternativa ao agitador mecânico, o fotobioreator tubular vertical de coluna de



bolhas é, comercialmente, útil à produção de microalgas, leveduras, cerveja e ácido acético, e tratamento de efluente. Compressor e placas laminares perfuradas, que rompem e distribuem bolhas de ar coalescentes, uniformemente, caracterizam as principais estruturas de *design*. Operacionalmente, bolhas de ar e meio de cultivo ascendem, conjuntamente, enquanto fluxo líquido denso descende, adjacente, à delimitação interna, promovendo homogeneização (Figura 7). Baixo custo de investimento, alta relação área superficial/ volume de trabalho, economia de componentes hidrodinâmicos, eficiente difusão de CO<sub>2</sub> e satisfatória taxa de transferência energética representam vantagens imediatas, enquanto heterogeneidade de fluxo gasoso e irregularidade de produtividade de biomassa, os principais problemas técnicos (GOUVEIA; OLIVEIRA, 2009; GUPTA; LEE; CHOI, 2015).

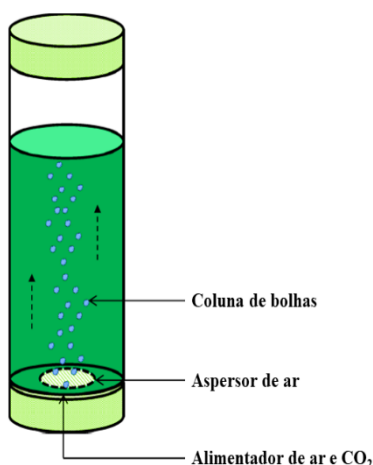


Figura 7. Esquemática de fotobioreator tubular vertical de coluna de bolhas  
GUPTA; LEE; CHOI, 2015.

À avaliação técnica de desempenho operacional de motor estacionário, alimentado com biodiesel de *C. vulgaris*, Scragg *et al.* (2002) cultivaram células em fotobioreator tubular vertical de coluna de bolhas, com capacidade volumétrica de 230 L, considerando-se as condições ambientais: meio *BBM*, pH 6,0, temperatura de 25 °C, intensidade de iluminação fluorescente de 76  $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ , ciclo fotoperiódico de 12: 12 h (luz: escuro) e agitação por injeção de ar comprimido esterilizado a 60 rpm. Hu *et al.* (2015) conduziram a pesquisa científica de influência de período de cultivo em crescimento específico e propriedades de biodiesel de *Nannochloropsis gaditana*, multiplicando-a, laboratorialmente, em fotobioreator tubular vertical de coluna de bolhas, com capacidade volumétrica de 0,5 L. Ao submetê-la aos ciclos fotoperiódicos, 24: 0, 18: 6, 12: 12, 6: 18 e 0: 24 h, nutrindo-a pelo meio *BG-11* (*Blue Green*) e injeção de taxas variáveis de CO<sub>2</sub>, os autores constataram máxima produtividade de lipídeos equivalente a 289,50 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> e

melhorias em grau de saturação, valor de iodo e cetanagem de biodiesel. À produção de biodiesel por transesterificação *in situ* de lipídeos extraídos de biomassa integral úmida por solventes eutéticos, Pan *et al.* (2017) cultivaram as clorofíceas, *C. vulgaris* e *Chlorococcum sp.*, em fotobioreator tubular vertical de coluna de bolhas, multiplicando-as em meio *BG-11*, à temperatura de 30 °C e intensidade de iluminação fluorescente de 80  $\mu\text{mol s}^{-1}$ .

### Elevação (Airlift)

A hidrodinâmica de fotobioreator tubular vertical *airlift* é, engenhosamente, fundamentada em separação física de fases: ar comprimido é introduzido ao meio pelo sistema de alimentação, alinhado à base. Então, bolhas coalescentes se elevam, centralmente, ao separador gás-líquido; há recirculação adjacente de líquido denso, isento de bolhas, à medida que estas se desprendem do compartimento. O padrão de mistura circular proporciona, então, efeito de iluminação intermitente às células, condicionando-as à fotossíntese. *Loop* interno, *loop* interno concêntrico e *loop* externo (Figura 8) são variações da tecnologia (GOUVEIA; OLIVEIRA, 2009; GUPTA; LEE; CHOI, 2015).

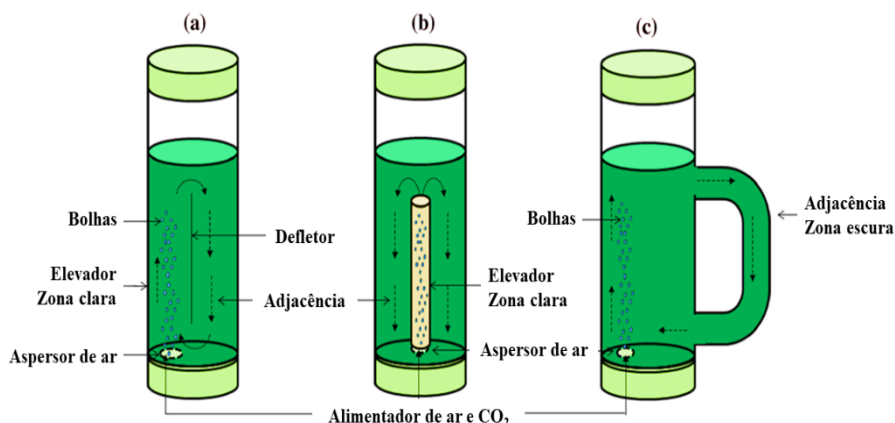


Figura 8. Esquematisação de fotobioreator tubular vertical *airlift*: (a) *loop* interno, (b) *loop* interno concêntrico e (c) *loop* externo

GUPTA; LEE; CHOI, 2015.

Ao estudo de intensificação de produtividade de lipídeos neutros, aplicando-se glicerol residual de planta industrial de biodiesel de primeira geração e acetato de sódio à nutrição de células de *C. vulgaris*, Estévez-Landazábal *et al.* (2013) implementaram fotobioreator tubular vertical *airlift*. Lal e Das (2016) compartilharam a tecnologia ao estabelecimento de cultivo fotoautotrófico de *Chlorella sp.* e *Synechocystis sp.*, nutridas em *TAP*-acetato e *BG-11*, respectivamente.

## Tubular Horizontal

É, contraditoriamente, o sistema de cultivo mais popular. As principais dissimilaridades, em relação ao tubular vertical, são: razão área superficial/ volume de trabalho, padrões de dispersão de  $\text{CO}_2$ , transferência de massa e homogeneização de células, e nível de irradiação de luz. Horizontal, inclinado, espiral e helicoidal são prováveis configurações à superfície de exposição à luz (Figura 9). Ao *design*, deve-se ponderar: variáveis climáticas, custos de aquisição, operação e manutenção e, principalmente, finalidade de cultivo, pois há distinções em comprimento total de tubulação, velocidade de fluxo de alimentação, eficiência de penetração de luz, dispersão de  $\text{CO}_2$  e transferência de massa, e, principalmente, relação área superficial/ volume de trabalho, parâmetro de engenharia importantíssimo à produtividade e qualidade de biomassa. As principais desvantagens são: acúmulo de  $\text{O}_2$  sob nível tóxico às células, inadequacidade à escala industrial, devido à necessidade de arrefecimento constante, e limitada produtividade de biomassa, comparado ao fotobioreator tubular vertical de coluna de bolhas (GUPTA; LEE; CHOI, 2015).

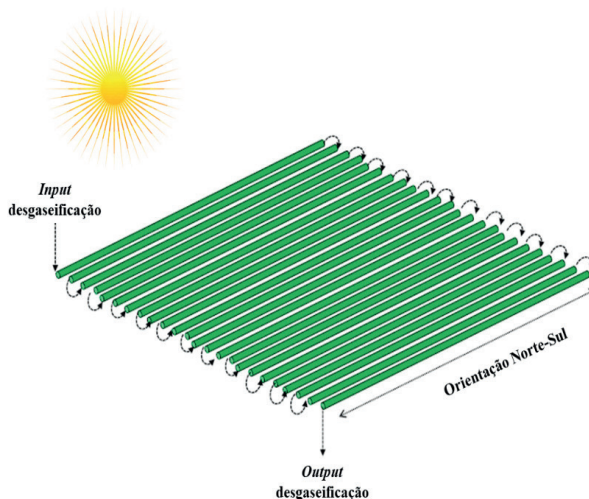


Figura 9. Esquemática de fotobioreator tubular horizontal  
GUPTA; LEE; CHOI, 2015.

## Painel Plano (*Flat Panel*)

Este sistema de cultivo, normalmente, fabricado em acrílico, devido à ótima transparência de material, é, geometricamente, simples: alta razão área superficial/ volume de trabalho, ausência de dispositivos de agitação mecânicos e sistema de aeração por injeção controlada de ar comprimido são as principais exclusividades (Figura 10). Comparado a fotobioreatores tubulares, garante melhor eficiência fotossintética e restrito acúmulo de  $\text{CO}_2$ ; entretanto, apresenta desvantagens: insustentabilidade em escala comercial, devido aos insatisfatórios rendimentos de biomassa e lipídeos, ocasionados

por penetração superficial de luz, dificuldade de controle de temperatura e ineficiência hidrodinâmica (Tabela 6) (GUPTA; LEE; CHOI, 2015; PRUVOST *et al.*, 2011; SLEGGERS *et al.*, 2011; UGWU; AOYAGI; UCHIYAMA, 2008).

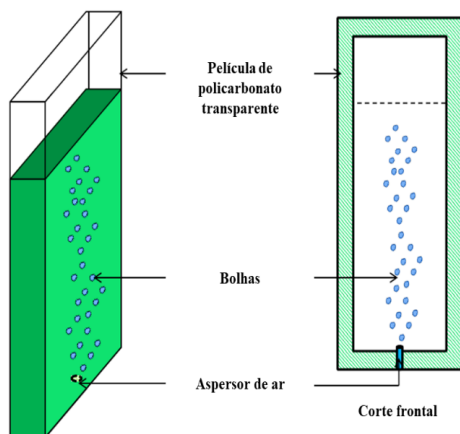


Figura 10. Esquematização de fotobioreator de painel plano

GUPTA; LEE; CHOI, 2015.

Pruvost *et al.* (2011), responsáveis pela investigação sistemática de produtividades de biomassa e lipídeos de microalgas, cultivadas em fotobioreatores, para síntese de biodiesel, multiplicaram as espécies, *C. vulgaris*, *Neochloris oleoabundans* e *Cylindrotheca closterium*, laboratorial e escalonadamente, em sistema de painel plano, à temperatura de 25 °C, injetando-se CO<sub>2</sub> à nutrição de células. De acordo com os autores, *N. oleoabundans* e *C. vulgaris* proporcionaram os maiores teores de lipídeos totais e triacilgliceróis: 25 a 37 e 11 a 14 %, respectivamente.

À avaliação técnica da modalidade híbrida de cultivo, heterotrófico-diluído fotoindutivo, Fan *et al.* (2012) multiplicaram as espécies, *C. vulgaris*, *C. pyrenoidosa* e *C. ellipsoidea*, laboratorialmente, empregando-se fotobioreator de painel plano, com capacidade volumétrica de 3 L. Os autores as mantiveram em meio HA-SK (*Sorokin-Krauss*), à temperatura de 30 °C e intensidade de iluminação fluorescente de 300  $\mu\text{mol s}^{-1}$ , obtendo-se máxima produtividade de lipídeos, proporcional a 89,90 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, em *C. pyrenoidosa*. Pretendendo-se melhorias ao desempenho técnico-econômico de fotobioreator de painel plano *airlift*, aplicado ao cultivo experimental de *C. vulgaris*, Guo, Yao e Huang (2015) propuseram soluções à hidrodinâmica de aeração e transferência de massa. Segundo os autores, taxa de exaustão de gás superficial, velocidade de circulação de líquido e tempo de homogeneização de meio corresponderam aos principais parâmetros otimizados, tornando o sistema promissor à produção em larga escala de biomassa. À triagem de candidatos à produção de biodiesel, Taleb *et al.* (2016) delinearão bateria de fotobioreatores de painel plano, com capacidade volumétrica de 1 L, adotando-se as condições de cultivo: pH 8,0, temperatura de 25 °C, intensidade de iluminação de  $\mu\text{mol s}^{-1}$

fótons  $m^{-2} s^{-1}$  e aeração por injeção de  $CO_2$ . A popularidade de fotobioreator de painel plano à tecnologia de microalgas é reiterada por Idris *et al.* (2017), que o planejaram ao cultivo de *C. vulgaris*. Interessantemente, os autores comprovaram capacidade de multiplicação de células suspensas em *POME* (*palm oil methyl ester*), efluente de indústria de processamento de óleo de palma, sujeitando-as à temperatura de  $25 \pm 1$  °C, intensidade de iluminação fluorescente de 40  $\mu$ mol fótons  $m^{-2} s^{-1}$ , ciclo fotoperiódico de 12: 12 h e agitação pneumática.

| Sistema            | Área: volume | Agitação   | Controle de temperatura                                      | Troca gasosa              | Vantagens  | Desvantagens   |
|--------------------|--------------|------------|--|---------------------------|--|--|
| Lagoa              | Alto         | Mecânica   | Não  | Superficial               | Econômico;<br><i>Design</i> simples e versátil;<br>Produção em larga escala  | Limitada produtividade de biomassa;<br>Descontrole de condições de cultivo;<br>Sensibilidade à contaminação microbiana;<br>Ocupação territorial;<br>Ineficiente difusão gasosa |
| Agitador           | Baixo        | Mecânica   | Trocadores de calor  | Injeção de $O_2$ e $CO_2$ | Eficientes trocas energética e gasosa;<br>Ótima dispersão de luz;<br>Insensibilidade à contaminação;<br><i>Design</i> simples;<br>Moderada produtividade de biomassa           | Relação área superficial/ volume de trabalho;<br>Limitada transferência térmica;<br>Oneroso consumo energético;<br>Inviabilidade à escala comercial                            |
| Tubular vertical   | Baixo        | Pneumática | -  | Direta                    | Eficiente transferência de massa; Ausência de componentes móveis;<br>Limitada inibição fotossintética  | Relação área superficial/ volume de trabalho;<br>Onerosidade de material de construção;<br>Limitada escalabilidade   |
| Tubular horizontal | Alto         | Pneumática | Sombreamento;<br>Sobreposição de ductos;<br>Aspersão de água | Injeção de $O_2$ e $CO_2$ | Econômico;<br>Relação área superficial/ volume de trabalho;<br>Restrito estresse hidrodinâmico;<br>Adequacidade ao cultivo <i>outdoor</i> , Razoável produtividade de biomassa | Ineficiente difusão de $O_2$ e $CO_2$ ;<br>Sensibilidade à fotoinibição;<br>Obstrução à penetração de luz;<br>Ocupação territorial;<br>Dificuldade de controle de temperatura  |
| Painel plano       | Alto         | Pneumática | Bobinas  | Direta                    | Econômico;<br>Razão área superficial/ volume de trabalho;<br>Limitada exigência de $CO_2$ comercial  | Penetração superficial de luz;<br>Não escalabilidade;<br>Dificuldade de controle de temperatura  |

Tabela 6. Características, vantagens e desvantagens de sistemas de cultivo de microalga

GUPTA; LEE; CHOI, 2015

À seleção de fotobioreator, orienta-se, portanto, avaliar, técnica, econômica e ambientalmente: espécie de microalga, propensão à contaminação microbiana, finalidade de cultivo, produtividade, operacionalidade, escalabilidade, consumo energético, custos de instalação e manutenção, potencial de aquecimento global, geração e manejo de efluentes (GUO; YAO; HUANG, 2015).

### Condições Operacionais em Escala Laboratorial

As condições operacionais de cultivo laboratorial em fotobioreatores são, planejadamente, definidas pela hipótese de pesquisa: espécie e finalidade de biomassa, tipo e composição nutricional de meio, densidade de inóculo, pH, temperatura, intensidade e qualidade de iluminação artificial, ciclo fotoperiódico, taxa de injeção de CO<sub>2</sub>, hidrodinâmica, duração, técnicas de colheita, pré-tratamento e extração de lipídeos, e tecnologias de transesterificação de biodiesel são variáveis, frequentemente, investigadas, pretendendo-se otimizá-las ao escalonamento industrial.

À análise de produção de lipídeos por remoção de nutrientes de água residual de suinocultura, Ji *et al.* (2013) cultivaram *C. vulgaris*, fotoautotroficamente, em erlenmeyer (0,5 L), à temperatura de 27 °C e intensidade de iluminação fluorescente de 50 μmols fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, nutrindo-a por injeção contínua de ar comprimido esterilizado a 60 rpm, por 30 dias. Lohman *et al.* (2013) implementaram cultivos independentes de *C. vulgaris* e *Chlamydomonas reinhardtii* em fotobioreatores tubulares (1,5 L), ocupados por meio *BBM*, mantendo-os a pH 8,7, temperatura de 24 ± 1°C, intensidade de iluminação fluorescente de 400 μmols fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, ciclo fotoperiódico de 14: 10 h; à nutrição inorgânica de células, injetou-se CO<sub>2</sub> (5,0 % v v<sup>-1</sup>). À síntese e análise de desempenho operacional de motor estacionário alimentado com biodiesel de microalga, Al-Lwayzy, Yusaf, e Al-Juboori (2014) multiplicaram células de *C. vulgaris* em galão plástico (15,0 L), à temperatura de 22 ± 3 °C, intensidade de iluminação fluorescente de 2.500 lux, ciclo fotoperiódico de 18: 6 h e agitação pneumática. O imprevisto de fotobioreator custou aos autores produtividade de biomassa e qualidade de óleo, pois houve comprometida passagem de luz, devido à transparência de material. Huang *et al.* (2014) experimentaram os métodos de lise celular, ozonização e ultrasonicação, cultivando-se *C. vulgaris* em incubador automatizado, à temperatura de 25 °C, intensidade de iluminação de 9.600 lux e ciclo fotoperiódico de 12: 12 (Tabela 7).

| Espécie   | Fotobioreator (capacidade)                 | Inóculo (g L <sup>-1</sup> ) | Meio                | pH  | Temp. (°C) | Intensidade luz                             | Fotop. (luz: escuro) | Agitação (rpm) | Injeção CO <sub>2</sub> (% v v <sup>-1</sup> ) | Tempo (d) | Referência                               |
|---|--|------------------------------|---------------------|-----|------------|---|----------------------|----------------|--|-----------|--|
| <i>C. vulgaris</i>  | Erlenmeyer (0,5 L)                         | -                            | -                   | -   | 27         | 50 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>    | -                    | 60             | -  | 30        | Ji <i>et al.</i> (2013)                  |
| <i>C. vulgaris</i> ,<br><i>C. reinhardtii</i>                                 | Fotobioreator (1,5 L)                      | -                            | BBM                 | 8,7 | 23–25      | 80 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>    | 14: 10               | -              | 5,0  | -         | Lohman <i>et al.</i> (2013)              |
| <i>C. vulgaris</i>  | Galão plástico (15,0 L)                    | -                            | -                   | -   | 19–25      | 2.500 lux                                   | 18: 6                | -              | -  | -         | Al-Lwayzy, Yusaf e Al-Juboori (2014)     |
| <i>C. vulgaris</i>  | Incubador                                  | -                            | -                   | -   | 25         | 9.600 lux                                   | 12: 12               | -              | -  | -         | Huang <i>et al.</i> (2014)               |
| <i>C. vulgaris</i>  | Recipiente (0,5 L)<br>Fermentador (1,0 L)  | -                            | HA-SK               | -   | -          | -   | -                    | 250            | -  | -         | Fan <i>et al.</i> (2012)                 |
| <i>Chlorella sp.</i> ;<br><i>Nannochloropsis sp.</i>                          | Frasco (0,5 L)                             | -                            | BG-11               | 7,3 | 30         | 3.000 lux                                   | 16:8                 | -              | -  | 10        | Cheirsilp e Torpee (2012)                |
| <i>C. vulgaris</i>  | Recipiente (1,0 L)                         | -                            | BBM<br>Bristol      | 6,2 | -          | 60 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>    | -                    | -              | -  | -         | Yeh e Chang (2012)                       |
| <i>Leptolyngbya sp.</i> ;<br><i>C. vulgaris</i>                               | Fotobioreator (5,0 L)                      | -                            | Biofertilizante     | 6,8 | 25–28      | 60–70 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> | -                    | -              | -  | -         | Lam; Lee, 2012                           |
| <i>C. vulgaris</i> ;<br><i>C. sorokiniana</i>                                 | Frasco cônico (3,0 L)                      | -                            | Guillard F/2        | -   | 24–26      | 80 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>    | 12:12                | -              | -  | -         | Cha <i>et al.</i> (2011)                 |
| <i>D. tertiolecta</i> ;<br><i>C. vulgaris</i>                                 | Fotobioreator (20 L)                       | -                            | -                   | -   | -          | 225 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>   | -                    | -              | -  | -         | Carver <i>et al.</i> (2011)              |
| <i>C. vulgaris</i> ;<br><i>N. oculata</i>                                     | Erlenmeyer (0,5 L)<br>Fermentador (11,0 L) | -                            | BBM<br>Guillard F/2 | 7,2 | 25         | 3.500 lux                                   | 12:12                | -              | 98,8<br>5,0                                    | 14        | Franco Trabucco <i>et al.</i> (2011)     |
| <i>C. vulgaris</i>  | Fotobioreator (45 L)                       | -                            | BG-11               | 8,6 | 10–30      | -   | 14:10                | -              | -  | 8         | Álvarez <i>et al.</i> (2016)             |
| <i>Nannochloropsis sp.</i>  | Duran (0,5 L)                              | 0,14 – 0,15                  | Chu-13              | -   | 28–32      | 47 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>    | 24:0                 | -              | 10,0   | 7         | Cheirsilp, Thawechai e Prasertsan (2017) |
| <i>C. pyrenoidosa</i>   | Erlenmeyer (1,0 L)                         | -                            | BG-11<br>Selenito   | -   | 23–27      | 100 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>   | 12:12                | -              | -  | -         | Cao <i>et al.</i> (2017)                 |
| <i>C. vulgaris</i>  | Erlenmeyer (0,25 L)                        | -                            | -                   | -   | 23–27      | 50 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>    | -                    | 100            | -  | -         | Deng <i>et al.</i> (2018)                |
| <i>C. vulgaris</i>  | Erlenmeyer (0,3 L)                         | -                            | BG-11               | -   | 25         | 2.500 lux                                   | 12:12                | 200            | -  | -         | Choi, Jang e Kan (2018)                  |
| <i>C. vulgaris</i>  | Erlenmeyer (0,25 L)                        | 0,12                         | -                   | 8,0 | 20–30      | 250 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>   | 18:6                 | -              | -  | -         | Suthar e Verma (2018)                    |
| <i>Chlorella sp.</i> ;<br><i>Neochloris sp.</i> ;<br><i>Chlamydomonas sp.</i> | Erlenmeyer (0,5 L)                         | -                            | BG-11               | -   | 30         | 37 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>    | 12:12                | -              | -  | 22        | Gumbi <i>et al.</i> (2017)               |
| <i>C. vulgaris</i>  | Aquário (6,0 L)                            | -                            | BBM                 | -   | 22–28      | 70 μmols m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>    | -                    | -              | -  | 12        | Wong <i>et al.</i> (2017)                |

|  |                          |   |  |   |           |  |      |     |     |    |  |
|--|--------------------------|---|--|---|-----------|--|------|-----|-----|----|--|
| <i>C. vulgaris</i>   | Fotobioreator<br>(1,0 L) | - | BG-11                                  | - | 23<br>-27 | 50 $\mu\text{mols}$<br>$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$  | 16:8 | -   | -   | -  | Moradi-<br>Kheibari,<br>Ahmadzadeh<br>e Hosseini<br>(2017) |
| <i>C. vulgaris</i> ;<br><i>C. minor</i> ;<br><i>Neochloris sp.</i> ;<br><i>N. salina</i><br><i>C. fusiformis</i> | Duran<br>(2,0 L)         | - | BG-11<br>Silicato<br>e água<br>marinha | - | 24-26     | 290 $\mu\text{mols}$<br>$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ | -    | 135 | 5,0 | 14 | Chatsungnoen<br>e Chisti (2016)                            |

Tabela 7. Condições operacionais aplicadas ao cultivo laboratorial de microalgas

Complementarmente, à melhoria de qualidade de iluminação artificial, Fu *et al.* (2012) integraram a tecnologia de *LED* (*light-emitting diodes*) ao cultivo de *C. vulgaris* em fotobioreator. Os autores registraram maximização de produtividade de biomassa, equivalente a 2110,00 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, e controle de variáveis ambientais, principalmente, contaminantes microbianos; todavia, declaram necessidade de comprovação de sistema em escala comercial. Pretendendo-se otimização de colheita de biomassa, Cheirsilp, Thawechai e Prasertsan (2017) implementaram fotobioreator de leite fluidizado, com capacidade volumétrica de 3,0 L, à multiplicação de células de *Nannochloropsis sp.*, cultivadas à temperatura de 30 °C, intensidade de iluminação de 47  $\mu\text{mols}$  fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e ciclo fotoperiódico de 24: 0 h. Os autores obtiveram êxito, imobilizando-as em matriz de gel de alginato. A tecnologia de leite fluidizado é promissora à produção comercial sustentável de biodiesel de microalga, pois estimula a adesão espontânea de células ao substrato de suporte, tornando-as, facilmente, removíveis. A principal desvantagem é o ajuste de equilíbrio termodinâmico, devido à complexidade das interfaces: microalga-líquido, substrato-líquido e substrato-microalga (MOHD-SAHIB *et al.*, 2017).

Resumidamente, as microalgas, *Chlamydomonas sp.*, *C. vulgaris*, *C. sorokiniana*, *Choricystis minor*, *Cylindrotheca fusiformis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Nannochloropsis salina* e *Neochloris sp.*, dulcícolas e marinhas, são cultivadas em erlenmeyer, frasco Duran, galão plástico, aquário, incubador automatizado, fermentador e fotobioreatores convencionais, nutrindo-se em meios padrões, *BBM*, *BG-11*, *Chu-13* e *Guillard F/2*, ou modificados por selenito, água marinha e, ou, silicato, à temperatura de 10 a 30 °C, intensidade de iluminação fluorescente de 37 a 290  $\mu\text{mols}$  fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, ou 2.500 a 9.600 lux, ciclo fotoperiódico de 12: 12 h, velocidade de agitação pneumática de 100 a 400 rpm e taxa de injeção de CO<sub>2</sub> de 5,0 a 98,8 % v v<sup>-1</sup>, por 7 a 30 dias.

## HÍBRIDOS

Sistema híbridos contemplam, sugestivamente, fotobioreatores e lagoas superficiais amplas em complementariedade. Adesanya *et al.* (2014) propuseram cultivo conjugado, planejando-o em estágios sequenciais: o primeiro, integrado por bateria de fotobioreatores tubulares verticais *airlift*, enquanto o segundo, delineado em lagoas superficiais, inoculadas com células, previamente, multiplicadas sob restrição nitrogenada, pretendendo-se otimização à produtividade de lipídeos. A análise de ciclo de vida realizada pelos



autores confirmou: consumo de energia elétrica e fertilizantes, nitrogenado e fosfato são, respectivamente, as principais fontes de demanda de energia fóssil e aquecimento global; comparativamente, fotobioreatores emitem substancial volume de gases de efeito estufa, enquanto o principal fator antiecológico de lagoas é o consumo de energia elétrica. O princípio de sistema misto é, portanto: proporcionar *superávit* ao balanço energético de cultivo comercial de microalga pela geração sustentável de biocombustíveis, químicos finos e bioativos de valor agregado.

# MICROALGAS OLEAGINOSAS

Microalgas oleaginosas contém, primordialmente, lipídeos polares – fosfolipídios e glicolipídios – e neutros – mono, di e triglicerídeos –, ácidos graxos livres, hidrocarbonetos e pigmentos (Figura 11). Triglicerídeos, particularmente, confinam-se em vacúolo, organela especializada, e membranas de tilacóide de cloroplasto; as fases de crescimento, *lag* ou adaptativa, log ou exponencial e estacionária, espécie e ambiente condicionam síntese e estoque de lipídeos neutros (LOHMAN *et al.*, 2013; PIGNOLET *et al.*, 2013).

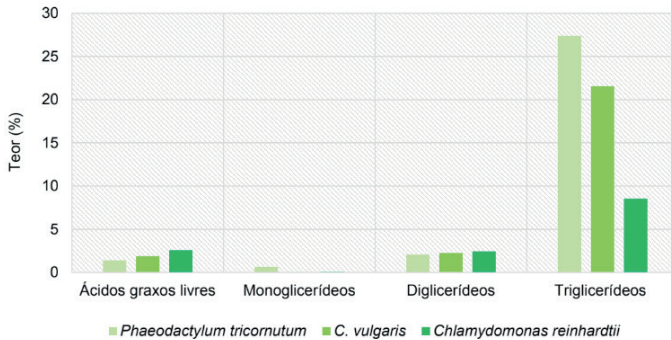


Figura 11. Perfil de fração lipídica de microalgas oleaginosas  
LOHMAN *et al.*, 2013.

O referencial bibliográfico em tecnologia de biodiesel de terceira geração compartilha artigos científicos que abordam, principalmente, processos *downstream: design* de sistemas de cultivo, técnicas de colheita de biomassa e química de produção de biocombustível *etc.* Todavia, isolamento, seleção e identificação de espécies oleaginosas são etapas determinantes à sustentabilidade de biorrefinaria. Há incontáveis espécies atrativas: indivíduos selvagens e, ou, termotolerantes, hiperacumuladores de óleo, particularmente, são desejadíssimos ao cultivo industrial em fotobioreatores *outdoor* e lagoas amplas superficiais, vulneráveis a condições ambientais (GE *et al.*, 2017; RAMESH KUMAR *et al.*, 2018; XIA *et al.*, 2013).

## ISOLAMENTO

O isolamento é pré-requisito à obtenção de culturas puras, pretendendo-se cultivá-las, selecioná-las, identificá-las e, finalmente, aplicá-las à produção de biodiesel, químicos finos e, ou, bioprodutos de valor agregado, orientando-se por: biodiversidade e acessibilidade ao sítio geográfico. Há possibilidades de praticá-lo em ecossistemas aquáticos naturais, dulcícolas e marinhos, estações de tratamento de água e esgoto, aquicultura, planta industrial de produção de biocombustíveis e, atipicamente, fontes geotermiais e rizosfera (ABOU-SHANAB *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2014).

## Habitats Naturais

O estudo científico de processo completo de isolamento, cultivo e conversão de biomassa de microalgas em biodiesel por transesterificação metanólica *in situ*, conduzido por Jazzar *et al.*, (2015), ressalta a importância prática de corpos hídricos marinhos à coexistência de *C. vulgaris* e *Nannochloris sp.* Cha *et al.* (2011) e Sydney *et al.* (2011), que investigaram regulação de síntese de lipídeos por privação nutricional e triagem de microalgas para produção de biodiesel e fitorremediação de água residual municipal por remoção de carga mineral, coletaram amostras de *C. vulgaris* e *C. sorokiniana*, e *Spirulina platensis*, *Synechococcus midulans*, *C. minutissima*, *C. kessleri* e *Neochloris oleoabundans* de ecossistemas aquáticos naturais, respectivamente. A exemplo dos autores referenciados, Calixto *et al.* (2016), Gumbi *et al.* (2017) e Zhu *et al.* (2017) recorreram a habitats aquáticos naturais para isolar *C. vulgaris*, *Neochloris sp.* e *Chlamydomonas sp.*, e *Chlorella sp.*, respectivamente. Ao planejamento de pesquisa de efeitos de salinidade em crescimento específico, produtividade de lipídeos, perfil de ácidos graxos e propriedades energéticas de biodiesel, Pandit, Fulekar e Karuna (2017) adquiriram as espécies, *C. vulgaris* e *Acutodesmus obliquus*, de estuário, ambiente de transição entre rio e mar, influenciado por marés. À otimização de condições abióticas de meio de cultivo para produção alternativa de biodiesel de *C. vulgaris*, Tran *et al.* (2012), Yeh e Chang (2012) e Elumalai, Prakasam e Selvarajan (2011) a isolaram de ecossistema aquático eutrofizado por elementos minerais, propositalmente. De acordo com os autores, células sob habitats de alta demanda bioquímica são, hipoteticamente, eficazes à síntese de lipídeos por biorremediação de efluentes, devido à predisposição metabólica natural.

## Efluentes Agroindustriais

Há, inclusive, possibilidades de isolamento regular de *C. vulgaris*, acessando-se sistema de cultivo de camarão-de-água-doce, conforme descrito, metodologicamente, por Tran *et al.* (2012) e Yeh e Chang (2012), que pesquisaram transesterificação enzimática por lipase de *Burkholderia sp.* e efeitos de composição de meio e condição de cultivo em crescimento celular, produtividade de lipídeos e propriedades energéticas de biodiesel, respectivamente. Ji *et al.* (2013) e Xie *et al.* (2013) adquiriram células de *C. vulgaris*, isolando-as de estação de tratamento de água e esgoto e lagoa de decantação de efluentes de usina sucroenergética, respectivamente. O isolamento de microalgas de efluentes agroindustriais é tendência. O acesso a águas residuais de laticínio e municipal proporcionou a Choi, Jang e Kan (2018) e Ramesh Kumar *et al.* (2018), autores das pesquisas científicas, produção de biomassa e lipídeos por tratamento de efluente e comparativo de qualidade de biodiesel de microalgas sob estresse térmico, culturas puras de *Chlorella sp.* e *Leptolyngbya sp.*, respectivamente.

## Ecossistemas Atípicos

Fontes geotermiais são, notavelmente, recursivas ao isolamento estratégico de indivíduos termotolerantes, precisamente: *Desmodesmus sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Hindakia tetrachotoma* e *Micractinium sp.* (ONAY *et al.*, 2014; SMITH-BÄDORF *et al.*, 2013). A capacidade de suportar altas temperaturas é promissora à produção sustentável de biomassa, pois amenizaria riscos de contaminação microbiana e, principalmente, custos

operacionais de fotobiorreatores *outdoor*, instalados sob clima tropical, eliminando-se trocadores de calor e sistema de arrefecimento (ONAY *et al.*, 2014).

Ao estudo científico de composição bioquímica de *C. vulgaris*, Hong *et al.* (2016) a isolaram de sistema radicular de *Panax ginseng*, espécie medicinal comum em países asiáticos. Os autores argumentam que, apesar de, relativamente, inexplorada, rizosfera abrigaria microalgas com potencial de aplicação à biorrefinaria.

## CULTURA STOCK

Finalizada a etapa de isolamento, filtram-se e transferem-se, imediatamente, células de microalga ao compartimento de cultura pura, planejado para mantê-las sob condições ambientais controladas. Protocolos internacionais padronizados à ficologia contemplam múltiplas opções de fotobiorreator de escala laboratorial, meio de cultivo, temperatura, intensidade de iluminação artificial, ciclo fotoperiódico e taxa de injeção de CO<sub>2</sub>. Todavia, é, completamente, possível adaptá-las à finalidade de cultivo, introduzindo-se elementos enriquecedores de meio, substituindo-se iluminação fluorescente por painéis de LED, variando-se velocidade de agitação pneumática *etc.*

À manutenção de células de *Chlorella sp.* e *Nannochloris sp.*, Jazzar *et al.* (2015) utilizaram meio Conway, modificando-o pela introdução de 100 µg mL<sup>-1</sup> de ampicilina, 100 µg mL<sup>-1</sup> canamicina e 50 µg mL<sup>-1</sup> de nistatina, substâncias antibióticas que previnem contaminação microbiana. Cheirsilp e Torpee (2012), Fan *et al.*, (2012) e Ji *et al.* (2013) preservaram culturas puras de *Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.*, *Chaetoceros sp.*, *C. vulgaris*, *C. pyrenoidosa* e *C. ellipsoidea* em meios BG-11, Endo modificado e BBM, respectivamente. A popularidade destes meios é justificada pela regularidade de oferta e, principalmente, composição nutricional, riquíssima em macro e micronutrientes, e, eventualmente, vitaminas (Tabela 8).

| Componente  | Meio (g L <sup>-1</sup> ) |         |         |       |        |        |
|---|---------------------------|---------|---------|-------|--------|--------|
|   | BBM                       | Bristol | MBL     | Endo  | Conway | Chu-13 |
| glicose   | -                         | -       | -       | 30    | -      | -      |
| NaCl  | -                         | 0,025   | -       | -     | 100    | -      |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                              | 0,1106                    | 0,025   | 0,0368  | 0,11  | -      | 0,054  |
| NaNO <sub>3</sub>   | -                         | 0,75    | 0,085   | -     | -      | -      |
| KNO <sub>3</sub>  | 1,25                      | -       | -       | 6,29  | -      | 0,2    |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                              | 1                         | 0,075   | 0,037   | 1,2   | -      | -      |
| NaHCO <sub>3</sub>  | -                         | -       | 0,0126  | -     | -      | 0,036  |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                                   | -                         | 0,075   | 0,0087  | 1,2   | -      | 0,04   |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                                   | 1,25                      | 0,175   | -       | -     | -      | -      |
| Na <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .Si.9H <sub>2</sub> O              | -                         | -       | 0,0284  | -     | -      | -      |
| FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                              | 0,0498                    | -       | -       | 0,016 | -      | -      |
| C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NaO <sub>7</sub> .2H <sub>2</sub> O | -                         | -       | -       | 0,2   | -      | -      |
| FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O                              | -                         | 0,005   | 0,00315 | 0,002 | 0,0013 | -      |

|  |        |            |          |          |         |         |
|--|--------|------------|----------|----------|---------|---------|
| EDTA.2Na   | 0,5    | -          | 0,00436  | -        | 45      |         |
| Citrato de ferro   | -      | -          | -        | -        | -       | 0,01    |
| Ácido cítrico  | -      | -          | -        | -        | -       | 0,1     |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>   | 0,1142 | 0,000061   | 0,001    | 0,00286  | 0,0336  | 0,00285 |
| MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O   | 0,0144 | -          | 0,00018  | 0,00181  | 0,00036 | 0,0018  |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O                                | -      | -          | -        | -        | 0,03    | -       |
| MnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O   | -      | 0,000169   | -        | -        | -       | 0,1     |
| ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O   | 0,0882 | 0,000287   | 0,000022 | 0,000022 | -       | 0,00002 |
| ZnCl <sub>2</sub>  | -      | -          | -        | -        | 0,021   | -       |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O                                | 0,0119 | -          | 0,000006 | 0,000021 | -       | 0,00005 |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .7H <sub>2</sub> O | -      | 0,00000124 | -        | -        | 0,09    | -       |
| CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O   | 0,0157 | 0,0000025  | 0,00001  | 0,00007  | 0,02    | 0,00008 |
| Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O                              | 0,0049 | -          | -        | -        | -       | -       |
| CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O   | -      | -          | 0,00001  | -        | 0,02    | 0,00008 |
| Vitamina B1  | -      | -          | -        | -        | 2       | -       |
| Vitamina B12   | -      | -          | -        | -        | 0,1     | -       |

Tabela 8. Composição nutricional de meios aplicados à manutenção de culturas puras de microalgas

BENMOUSSA-DAHMEN *et al.*, 2016; CHEIRSILP; THAWECHAI; PRASERTSAN, 2017; FAN *et al.*, 2012; SUTHAR; VERMA, 2018; XAALDI KALHOR *et al.*, 2016; YEH; CHANG, 2012

Ao preparo de cultura *stock* de *C. vulgaris*, espécie dulcícola adaptada a microclimas marinhos, Archanaa *et al.* (2019) utilizaram os meios, *Guillard F/2* e *Ryther*, incomum à produção comercial de biodiesel. Segundo os autores, meios salinos são alternativas ao cultivo em larga escala, pois induzem síntese de lipídeos, além de restringirem multiplicação e residência bacterianos. Pretendendo-se avaliar resposta de *C. vulgaris* à nutrição (ARCHANAA *et al.*, 2019; DENG *et al.*, 2018; GUMBI *et al.*, 2017; JAZZAR *et al.*, 2015; ONAY *et al.*, 2014; TALEB *et al.*, 2016; YEN *et al.*, 2013).

Embora haja múltiplas opções, melhorias em composição nutricional de meios de cultivo são demandas imediatas ao estabelecimento de culturas puras: o ideal seria associar elementos sob concentrações benéficas ao metabolismo energético, equilibrando-se rendimentos produtivos de biomassa e óleo.

## SELEÇÃO

A seleção de espécies oleaginosas é questão-chave à sustentabilidade de produção em escala comercial de biodiesel de microalga: sempre que possível, deve-se optar por indivíduos resilientes e produtivos; taxa de crescimento específico, versatilidade metabólica, composição bioquímica, facilidade de cultivo, fragilidade celular, viabilidade à transesterificação *in situ* e qualidade de biodiesel são critérios de avaliação complementares (ARCHANAA *et al.*, 2019; DENG *et al.*, 2018; GUMBI *et al.*, 2017; JAZZAR *et al.*, 2015; ONAY *et al.*, 2014; TALEB *et al.*, 2016; YEN *et al.*, 2013).

## Crêterios

  sele o das microalgas, *Tetranephris brasiliensis*, *Ankistrodesmus gracilis*, *Ankistrodesmus sp.*, *Desmodesmus subspicatus*, *C. vulgaris*, *Desmodesmus sp.* e *C. sorokiniana*, Zhang *et al.* (2014) definiram os critérios: facilidade de cultivo, produtividade e composi o de biomassa, e teor de lipídeos (Figura 12). Os autores associaram facilidade de cultivo ao estabelecimento e operacionalidade de colheita, extra o, recupera o e purifica o de  leo. Sydney *et al.* (2011) selecionaram *Spirulina platensis*, *Synechococcus midulans*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella kessleri* e *Neochloris oleoabundans*,   produ o de biodiesel e ficoremedia o de água residual municipal, avaliando-se: taxa de crescimento específico (Tabela 9), produtividade de biomassa e acúmulo de lipídeos, e capacidade de remo o de contaminantes, minerais e orgânicos. Note-se, portanto: complexidade de sele o  , diretamente, proporcional   finalidade biotecnológica.

Abou-Shanab *et al.* (2011) adotaram facilidade de cultivo, produtividade de biomassa (Tabela 10) e qualidade de perfil de ácidos graxos (Tabela 11)   sele o de *Scenedesmus obliquus*, *Chlamydomonas mexicana*, *C. pilschmannii* e *C. vulgaris*.   distin o de microalgas   terceira gera o de biodiesel, Taleb *et al.* (2016) consideraram, oportunamente: fragilidade celular, produtividade e qualidade de perfil de ácidos graxos de lipídeos. Sob a perspectiva dos autores, as espécies marinhas, *N. oculata*, *N. salina*, *N. granulata*, *N. limnetica* e, e dulcícolas, *S. obliquus*, *N. oleoabundans*, *C. vulgaris* e *Parachlorella kessleri*, são candidatos em potencial, devido   facilidade de extra o de lipídeos e equilibrada rela o de hidrocarbonetos saturados e insaturados. Características de crescimento, composi o bioquímica (Tabela 12) e teor de lipídeos são variáveis essenciais   triagem de espécies   produ o de biodiesel, químicos finos e, ou, bioprodutos de valor agregado. Em média, a biomassa de microalga cont m: 5,00 a 23,00 % de carboidratos, 6,00 a 52,00 % de proteínas e 7,00 a 75,00 % de lipídeos (MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2015; SIALVE; BERNET; BERNARD, 2009).

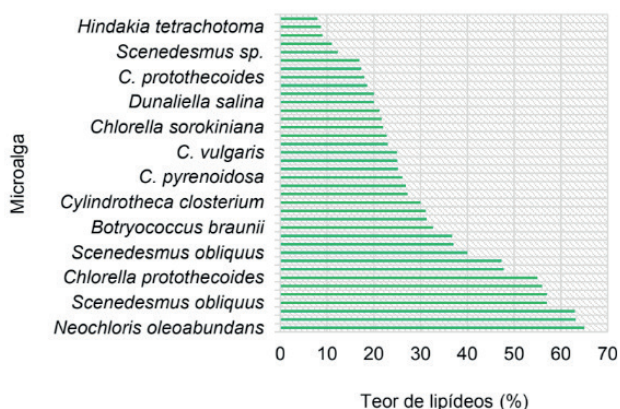


Figura 12. Teor de lipídeos de biomassa de microalgas aplicadas   produ o de biodiesel

FAN *et al.*, 2012; ILLMAN; SCRAGG; SHALES, 2000; KAUR *et al.*, 2012; LIU; WANG; ZHOU, 2008; NATRAH *et al.*, 2007; ONAY *et al.*, 2014; PRUVOST *et al.*, 2011; SPOLAORE *et al.*, 2006; SYDNEY *et al.*, 2011; TALEBI *et al.*, 2013; TORNABENE *et al.*, 1983; TRAN *et al.*, 2012; XIONG *et al.*, 2008.

O teor médio de lipídeos em biomassa de microalgas é, aproximadamente, 30,50 %. As espécies, *N. oleoabundans*, *C. vulgaris*, *C. emersonii*, *C. minutissima*, *C. sorokiniana*, *C. protothecoides*, *Ankistrodesmus gracilis*, *Botryococcus braunii*, *S. obliquus* e *Desmodesmus subspicatus* extrapolam a expectativa, promovendo-se, portanto, como superacumuladores de óleo à biorrefinaria. Segundo Chisti (2007), produtividade de biodiesel de microalga desidratada, com teor de lipídeos de 70,0 %, frequentemente, constatado em amostras de *Neochloris sp.* e *Chlorella sp.*, é equivalente a 136.900,00 L ha<sup>-1</sup>, enquanto conversão de material com 30,0 %, retorna, somente, 58.700,00 L ha<sup>-1</sup>. Em relação às culturas oleaginosas tradicionais, palma, coco, pinhão-mansão, canola, soja e milho, microalgas são imbatíveis (Figura 13).

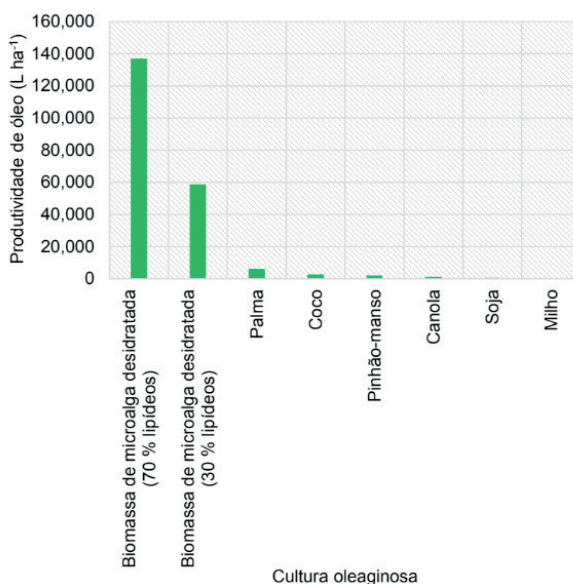


Figura 13. Produtividade de culturas oleaginosas aplicadas à indústria de biodiesel  
CHISTI, 2007.

O fato de as demais permanecerem aquém da realidade não descartaria prováveis aplicações biotecnológicas, pois disponibilidade de lipídeos totais não significativa, necessariamente, qualidade; triacilgliceróis são o foco de produção comercial de biodiesel, enquanto ácidos graxos de cadeia longa são, comparativamente, desprezíveis à finalidade, mas cobiçadíssimos pelas indústrias alimentícia e farmacêutica, devido a propriedades nutracêuticas e terapêuticas (GHIMIRE *et al.*, 2017).

| Microalga                | Taxa de crescimento específico ( $\mu$ , d <sup>-1</sup> ) | Tempo de duplicação celular (d) | Condição                                  | Referência                   |
|--------------------------|--|---------------------------------|---|------------------------------|
| <i>Chlorella sp.</i>     | 0,27 – 0,37  | 1,85 – 2,52                     | Efluente de bovinocultura                 | Zhu <i>et al.</i> (2017)     |
| <i>C. vulgaris</i>       | 1,26   | -                               | Fotobioreator à base de LED               | Atta <i>et al.</i> (2013)    |
| <i>Chlorella sp.</i>     | -  | 0,63                            | Meio Zarrouk                              | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 1,05                            | Esgoto doméstico municipal                | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,88                            | Biocomposto de fruticultura/ horticultura | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,36                            | Vinhaça                                   | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,13                            | Biocomposto de dejetos de avicultura      | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,07                            | Biocomposto de cama de aviário            | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
| <i>Chlamydomonas sp.</i> | -  | 0,95                            | Meio Zarrouk                              | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,87                            | Água residual municipal                   | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,79                            | Biocomposto de fruticultura/ horticultura | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,74                            | Vinhaça                                   | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,82                            | Biocomposto de dejetos de avicultura      | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,53                            | Biocomposto de cama de aviário            | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
| <i>L. longisetata</i>    | -  | 0,55                            | Meio Zarrouk                              | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,75                            | Água residual municipal                   | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,69                            | Biocomposto de fruticultura/ horticultura | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,09                            | Vinhaça                                   | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,47                            | Biocomposto de dejetos de avicultura      | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,39                            | Biocomposto de cama de aviário            | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
| <i>P. tetras</i>         | -  | 0,81                            | Meio Zarrouk                              | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,05                            | Água residual municipal                   | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,46                            | Biocomposto de fruticultura/ horticultura | Calixto <i>et al.</i> (2016) |
|                          | -  | 0,08                            | Vinhaça                                   | Calixto <i>et al.</i> (2016) |



|                         |           |      |   |                                     |
|-------------------------|-----------|------|---|-------------------------------------|
|                         | -         | 0,10 | Biocomposto de<br>dejetos de avicultura | Calixto <i>et al.</i> (2016)        |
|                         | -         | 0,06 | Biocomposto de<br>cama de aviário       | Calixto <i>et al.</i> (2016)        |
| <i>C. minor</i>         | 0,20      | -    | Meio BG-11                              | Chatsungnoen e Chisti<br>(2016)     |
| <i>Neochloris sp.</i>   | 0,22      | -    | Meio BG-11                              | Chatsungnoen e Chisti<br>(2016)     |
| <i>C. vulgaris</i>      | 0,30      | -    | Meio BG 11                              | Chatsungnoen e Chisti<br>(2016)     |
| <i>C. vulgaris</i>      | 0,20      | -    | Meio <i>BG-11</i> com<br>água marinha   | Chatsungnoen e Chisti<br>(2016)     |
| <i>N. salina</i>        | 0,17      | -    | <i>Meio BG-11</i> com<br>metasilicato   | Chatsungnoen e Chisti<br>(2016)     |
| <i>C. fusiformis</i>    | 0,10      | -    | <i>Meio BG-11</i> com<br>metasilicato   | Chatsungnoen e Chisti<br>(2016)     |
| <i>C. vulgaris</i>      | 0,11      | 0,16 | Lagoa, fluxo<br>contínuo                | Sharma <i>et al.</i> (2016)         |
| <i>C. vulgaris</i>      | 1,83      | -    | Meio <i>BG-11</i>                       | Abou-Shanab <i>et al.</i><br>(2011) |
| <i>C. mexicana</i>      | 1,65      | -    | Meio <i>BG-11</i>                       | Abou-Shanab <i>et al.</i><br>(2011) |
| <i>S. obliquus</i>      | 1,24      | -    | Meio <i>BG-11</i>                       | Abou-Shanab <i>et al.</i><br>(2011) |
| <i>C. pitschmannii</i>  | 0,61      | -    | Meio <i>BG-11</i>                       | Abou-Shanab <i>et al.</i><br>(2011) |
| <i>C. vulgaris</i>      | 0,23      | -    | Meio enriquecido<br>com biofertilizante | Lam e Lee (2012)                    |
| <i>Micractinium sp.</i> | 2,4 – 6,2 | -    | Meio <i>BG-11</i>                       | Onay <i>et al.</i> (2014)           |
| <i>H. tetrachotoma</i>  | 2,9 – 4,6 | -    | Meio <i>BG-11</i>                       | Onay <i>et al.</i> (2014)           |
| <i>Scenedesmus sp.</i>  | 3,1 – 4,0 | -    | Meio <i>BG-11</i>                       | Onay <i>et al.</i> (2014)           |

Tabela 9. Parâmetros cinéticos de microalgas

Teor de óleo e taxa de crescimento específicos são atributos importantíssimos à seleção de espécies: crescimento acelerado evita exposição prolongada a adversidades climáticas e, por tanto, resulta considerável rendimento técnico de biomassa (HÖFFNER; BARTON, 2014). Desconsiderando-se variabilidade imposta pelo meio, *Micractinium sp.*, *Hindakia tetrachotoma*, *Scenedesmus sp.*, *Chlorella sp.* e *Chlamydomonas sp.* se destacam pelas expressivas taxas de crescimento específico e, por isso, seriam preferíveis à biorrefinaria, em relação às demais espécies exemplificadas. Entretanto, à seleção, deve-se contemplar o máximo de critérios possíveis, inclusive, tempo de duplicação celular; o equilíbrio entre os parâmetros em questão é primordial à cinética, qualidade de biodiesel e, concomitantemente, dispêndio energético de sistema de cultivo (ZHU *et al.*, 2017).

| Microalga              | Biomassa (mg L <sup>-1</sup> ) | Lipídeos (mg L <sup>-1</sup> ) | Teor lipídeos (%) |
|------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------|
| <i>S. obliquus</i>     | 1840,00                        | 530,00                         | 29,00             |
| <i>C. pitschmannii</i> | 1040,00                        | 540,00                         | 51,00             |
| <i>C. vulgaris</i>     | 165,00                         | 440,00                         | 26,00             |
| <i>C. mexicana</i>     | 1530,00                        | 450,00                         | 29,00             |

Tabela 10. Rendimento técnico de microalgas

ABOU-SHANAB *et al.*, 2011

A espécie, *Chlamydomonas pitschmannii*, possui teor de lipídeos, absurdamente, superior, comparada à *Chlamydomonas mexicana*, *Scenedesmus obliquus* e *C. vulgaris*. O estado de rendimento produtivo é, transitoriamente, mutável por variáveis ambientais e tecnologia de cultivo. Embora ponderáveis, habilidades de síntese e estoque de lipídeos não traduzem, necessariamente, significativo rendimento produtivo e qualidade tecnológica de biodiesel (Figura 14), advertem Onay *et al.* (2014) e Taleb *et al.* (2016). Por isso, orientasse analisados, conjuntamente.

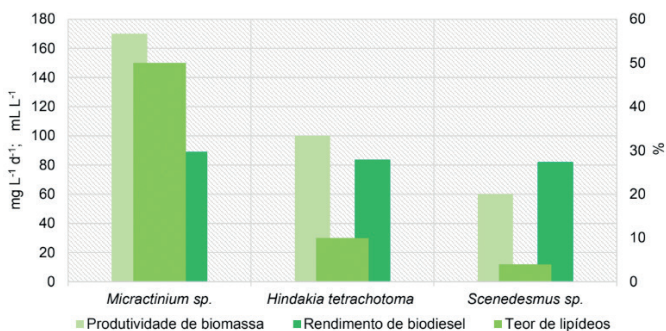


Figura 14. Produtividade de biomassa, teor de lipídeos e rendimento volumétrico de biodiesel de microalgas

ONAY *et al.*, 2014

| Ácido graxo (%) | Espécie            |                        |                    |                    |
|-----------------|--------------------|------------------------|--------------------|--------------------|
|                 | <i>S. obliquus</i> | <i>C. pitschmannii</i> | <i>C. vulgaris</i> | <i>C. mexicana</i> |
| Láurico         | 11,00              | 10,00                  | 5,00               | 34,00              |
| Mirístico       | -                  | 8,00                   | 2,00               | 10,00              |
| Palmitico       | 29,00              | 26,00                  | 22,00              | 50,00              |
| Palmitoléico    | -                  | -                      | 5,00               | -                  |
| Heptadecaenóico | -                  | -                      | -                  | -                  |

|                |       |       |       |      |
|----------------|-------|-------|-------|------|
| Estearico      | 17,00 | 20,00 | 5,00  | 6,00 |
| Oleico         | 20,00 | 13,00 | 53,00 | -    |
| Alfa-linoleico | -     | -     | -     | -    |
| Gama-linoleico | 23,00 | 23,00 | 8,00  | -    |

Tabela 11. Perfil de ácidos graxos de biodiesel de microalgas

ABOU-SHANAB *et al.*, 2011

Os gêneros, *Scenedesmus sp.*, *Chlamydomonas sp.* e *Chlorella sp.*, detêm percentuais de ácido palmítico, relativamente, próximos. A espécie, *C. vulgaris*, é vantajosa, em relação à disponibilidade de ácido oleico, essencial a propriedades energéticas de biocombustível e composição de alimentos funcionais; por isso, qualifica-se como matéria-prima de múltipla aptidão à biorrefinaria. Os ácidos graxos, regularmente, detectados em biodiesel de microalga são: palmítico, estearico, oleico e linoleico. Estes influenciam grau de saturação, valor de lodo, qualidade de ignição, ponto de congelamento de filtro frio, estabilidade oxidativa, inflamabilidade, viscosidade cinemática e lubricidade de biodiesel. A importância de perfil de ácidos graxos à qualidade e aceitação de biodiesel em mercados internacionais justifica, portanto, adotá-lo como critério-chave à seleção de potenciais candidatos (ABOU-SHANAB *et al.*, 2011; IDRIS *et al.*, 2017).

| Microalga              | Proteínas (%) | Lípídeos (%) | Carboidratos (%) |
|------------------------|---------------|--------------|------------------|
| <i>A. maxima</i>       | 60 – 71       | 6 – 7        | 13 – 16          |
| <i>Chaetoceros sp.</i> | 43            | 19           | 1                |
| <i>C. reinhardtii</i>  | 48            | 21           | 17               |
| <i>C. pyrenoidosa</i>  | 57            | 2            | 26               |
| <i>C. vulgaris</i>     | 51 – 58       | 14 – 22      | 12 – 17          |
| <i>D. salina</i>       | 26 – 57       | 6 – 16       | 25 – 32          |
| <i>E. gracilis</i>     | 39 – 61       | 14 – 20      | 14 – 18          |
| <i>Rhodomonas sp.</i>  | 29            | 19           | 9                |
| <i>S. maxima</i>       | 60 – 71       | 6 – 7        | 13 – 16          |
| <i>S. platensis</i>    | 46 – 64       | 4 – 9        | 8 – 25           |
| <i>S. obliquus</i>     | 50 – 56       | 12 – 14      | 10 – 17          |
| <i>C. vulgaris</i>     | 38,55         | 12,64        | 47,95            |
| <i>C. vulgaris</i>     | 50,87         | 24,96        | 20,87            |
| <i>Desmodesmus sp.</i> | 11,0 – 34,6   | 9,6 – 53,8   | 31,5 – 39,2      |

Tabela 12. Composição elementar de biomassa de microalga

CHACÓN-LEE; GONZÁLEZ-MARIÑO, 2010; FAN *et al.*, 2012; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ; ACOSTA-SALMÓN; SOUTHGATE, 2006; RENAUD; THINH; PARRY, 1999; SIALVE; BERNET; BERNARD, 2009

A finalidade de biomassa é, invariavelmente, condicionada à composição elementar. À produção de biodiesel, particularmente, prioriza-se matéria-prima rica em lipídeos neutros. O teor mínimo aceitável é 40,00 %; caso contrário, há insustentabilidade industrial, devido à onerosidade de custos de colheita e extração. Os lipídeos se acumulam sob condições específicas. Estas moléculas são classificadas pela extensão de cadeia carbônica: ácidos graxos, saturados e monoinsaturados, são úteis à síntese de biodiesel de qualidade superior, enquanto polinsaturados, principalmente, eicosapentaenóico (EPA) e docosa-hexaenóico (DHA), preferíveis à indústria alimentícia. Apenas 25,00 a 30,00 % dos lipídeos sintetizados por microalga são, verdadeiramente, aproveitáveis à transesterificação. As etapas de síntese de triacilglicerol são, resumidamente: produção citoplasmática de acetil-COA; alongação e dessaturação de cadeias carbônicas de ácidos graxos; e, finalmente, formação de triglicerídeo. Nesta rota, a enzima, carboxilase de acetil-COA (ACCase), é fundamental à promoção de malonil-COA, precursor de síntese de lipídeos neutros. Ácido cítrico e  $Mg^{2+}$  são moduladores de ACCase e, portanto, oferecem possibilidades de indução de síntese de triacilglicerol em microalgas (GHIMIRE *et al.*, 2017; THAMPY; WAKIL, 1985; YEN *et al.*, 2013; ZHU *et al.*, 2017).

O grupo de carboidratos é integrado por amido, glicose, celulose *etc.* O amido, especificamente, é investido à produção de bioetanol e biohidrogênio, enquanto os polissacarídeos, frutose, galactose, glicose, manose e xilose, representam oportunidades de negócio à industrialização de alimentos, cosméticos, têxteis, estabilizantes, emulsificantes, espessantes e químicos finos. Além das propriedades farmacêuticas, antienvhecimento, antioxidante, antitumoral, anticoagulantes, anti-inflamatória e antiviral, polissacarídeos compartilham funcionalidades terapêuticas (ARAD; LEVY-ONTMAN, 2010; CHOCHOIS *et al.*, 2009; HEO *et al.*, 2017; JOHN *et al.*, 2011; YEN *et al.*, 2013).

À bioprospecção de espécies, orienta-se, portanto: individualização de candidatos oleaginosos que permitam múltiplas aplicações biotecnológicas, pretendendo-se redução ao custo total de produção e consolidação mercadológica de biodiesel de terceira geração.

## IDENTIFICAÇÃO

Bioprospecção e triagem são importantíssimos à avaliação, comparação e seleção de hiperacumuladores de lipídeos neutros. Análise morfológica, sequenciamento genético, fluorocromo, cromatografia gasosa, espectrofotometria de massa e plasma são tecnologias aplicadas à identificação e mutação de microalgas oleaginosas à terceira geração de biodiesel (ARAUJO *et al.*, 2011; MUTANDA; KARTHIKEYAN; BUX, 2011).

### Análise Morfológica e Sequenciamento Genético

Consolidadas, as tecnologias de identificação, análise morfológica e sequenciamento genético, comumente, associadas, consideram, essencialmente: formato e tamanho, e similaridade filogenética, respectivamente. Apesar da praticidade e emprego de equipamentos de laboratório convencionais, a análise morfológica por microscopia é limitada, em relação a semelhanças dimensionais e pigmentos (ABOU-SHANAB *et al.*, 2011; CHA *et al.*, 2011; GUMBI *et al.*, 2017; ONAY *et al.*, 2014; XIE *et al.*, 2013).

Jazzar *et al.* (2015) identificaram as microalgas, *C. vulgaris* e *Nannochloris sp.*, molecularmente, sequenciando-se o gene, 18s rRNA, previamente, amplificado por PCR; enquanto Gumbi *et al.* (2017), que cultivaram os gêneros, *Chlorella sp.*, *Neochloris sp.* e *Chlamydomonas sp.*, o fizeram, posteriormente, à análise morfológica, polimerizando-se *primer* universal idêntico. À identificação de espécies dos gêneros, *Desmodesmus sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Chlorella sp.*, e *Chlorococcum sp.*, Kaur *et al.* (2012) utilizaram microscopia eletrônica e sequenciamento do gene, ITS-2 rRNA, devidamente, amplificado por PCR. Yeh e Chang (2012) comprovaram a viabilidade de identificação de espécies por árvore filogenética, reproduzida pela análise de sequenciamento do gene, 23s rRNA, eventualmente, relatado em artigos. Note-se, portanto, a arbitrariedade de escolha de *primer* ao sequenciamento genético de microalgas, pretendendo-se identificá-las por filogenia, recurso exploratório complementar à análise morfológica.

## Fluorocromo, Cromatografia Gasosa e Espectrofotometria de Massa

Análise morfológica e sequenciamento genético não traduzem, necessariamente, potencial de acúmulo e qualidade de lipídeos. Portanto, microalgas oleaginosas são, alternativamente, identificadas por classificação de células ativadas por fluorescência (*FACS*). As tecnologias, *Nile red* e *BODIPY*, possibilitam efetiva distinção de espécies, devido à seletividade espectral. Todavia, o emprego de *FACS* implica limitações: monitoramento e avaliação de células, individualmente; onerosos custos de aquisição e manutenção de equipamentos e reagentes específicos; e, principalmente, alta probabilidade de inativação de células por contaminação (LEE *et al.*, 2013).

### *Nile Red*

Econômica e precisa, *Nile red*, termo técnico designado à substância, 9-etilamino-5H-benzo[*a*]fenoxazin-5-ona, detecta glóbulos lipídicos (*lipid droplets*) estocados em organelas especializadas: o corante interage com triacilgliceróis, tornando-os fluorescentes, enquanto lipídeos polares mantém coloração padrão. A principal desvantagem da tecnologia é a incapacidade de qualificar lipídeos; imprecisão de prognóstico, devido ao restrito potencial de penetração em células de parede celular espessa, identifica-se como limitação secundária (RUMIN *et al.*, 2015; SELVARAJAN *et al.*, 2015).

Ao estudo de isolamento, identificação e triagem de microalgas selvagens de *habitats* aquáticos sul-africanos, Gumbi *et al.* (2017) adotaram os critérios de seleção: taxa de crescimento específico, tempo de duplicação celular, produtividade de biomassa e qualidade lipídica. Os autores selecionaram os candidatos, *Chlorella sp.*, *Neochloris sp.* e *Chlamydomonas sp.*, identificando-se células ricas em lipídeos neutros pelo corante fluorescente, *Nile red*. Analogamente, Elumalai, Prakasam e Selvarajan (2011) e Smith-Bădorf *et al.* (2013), que estudaram bioprospecção de espécies e perfil de ácidos graxos, aplicaram a técnica à identificação de estoques de triacilglicerol, matéria-prima indispensável à transesterificação de biodiesel.

## BODIPY

Alternativa imediata ao *Nile red*, *BODIPY*, método de triagem não-destrutivo, composto pela substância natural, 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diazas-indaceno, emprega corante verde-claro lipofílico de alto rendimento e sensibilidade à identificação de glóbulos lipídicos, evidenciando-os, analogamente. As vantagens proporcionadas pela tecnologia à ficologia são: individualização de células em microcápsulas de hidrogel de alginato, incrivelmente, manipuláveis; possibilidade de recuperação de objeto de estudo, dissolvendo-o em sistema tampão biocompatível; garantia de células recuperadas viáveis, devido à impossibilidade de contaminação; impressionantes rapidez e precisão. Insustentabilidade econômica, necessidade de equipamentos e reagentes específicos e capital humano especializado representam, entretanto, limitações (Tabela 13). As restrições de *BODIPY* justificam a bioprospecção de microalgas por cromatografia gasosa e, ou, espectrofotometria de massa, técnicas de alta sensibilidade, com melhor resolução, precisamente, capazes de identificar e quantificar ácidos graxos (COOPER *et al.*, 2010; GOVENDER *et al.*, 2012; HOUNSLOW *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2013).

| Técnica                                       | Vantagens   | Desvantagens  |
|---|---|---|
| Análise morfológica e sequenciamento genético | Praticidade;<br>Popularidade;<br>Equipamentos e reagentes econômicos<br>Não há necessidade de mão-de-obra especializada   | Limitada identificação de células, morfológica e fenotipicamente, próximas<br>Impossibilidade de identificação e quantificação de lipídeos neutros e ácidos graxos          |
| Fluorocromo por <i>Nile red</i>               | Econômica;<br>Confiável;<br>Eficaz identificação de lipídeos neutros  | Incapacidade de qualificação de lipídeos neutros<br>Restrito potencial de penetração<br>Necessidade de equipamentos e reagentes específicos, e capital humano especializado |
| Fluorocromo por <i>BODIPY</i>                 | Confiável;<br>Eficaz identificação de lipídeos neutros<br>Individualização de células em microcápsulas de hidrogel de alginato;<br>Possibilidade de recuperação de células;<br>Garantia de células recuperadas viáveis, devido à impossibilidade de contaminação;<br>Rapidez e precisão | Insustentabilidade econômica;<br>Incapacidade de qualificação de lipídeos neutros<br>Necessidade de equipamentos e reagentes específicos, e capital humano especializado    |
| Cromatografia e espectrofotometria            | Versatilidade;<br>Sensibilidade;<br>Poder de resolução;<br>Quantificação precisa de ácidos graxos   | Reprodutibilidade;<br>Saturação   |

Tabela 13. Vantagens e desvantagens de técnicas de identificação de microalgas oleaginosas

Lee *et al.* (2013), responsáveis pela pesquisa científica de análise *in situ* de heterogeneidade em teor de lipídeos em clorofíceas microencapsuladas em hidrogel de alginato, identificaram os candidatos, *C. vulgaris*, *Chlamydomonas sp.* e *B. braunii*,

aplicando-se o corante fluorescente lipofílico, *BODIPY 505/515*. Os autores enaltecem que a individualização de células em matrizes artificiais é questão-chave ao controle de contaminação e reaproveitamento de material.

### *Plasma*

Métodos mutagênicos, físicos (raio-x, raio-γ, radiação ultravioleta *etc.*) e químicos (alquilantes, azidas *etc.*), são alternativas ao melhoramento de microrganismos. O plasma, particularmente, é aplicado à mutação de microalgas selvagens, previamente, à etapa de identificação: o objetivo da tecnologia é otimizá-las, em relação ao rendimento de biomassa e, principalmente, síntese e estoque de lipídeos neutros. As principais vias de geração de plasma são: descarga de barreira dielétrica e incandescência por radiofrequência; comparativamente, a última proporciona eficiente controle de processo de mutação, limitado consumo energético e homogeneidade de descarga. A integração de plasma ao fluorocromo, cromatografia gasosa e, ou, espectrofotometria de massa seria, inclusive, oportuna à melhoria e identificação de hiperacumuladores de lipídeos neutros (CAO *et al.*, 2017; HOU *et al.*, 2008; RAVINDRAN; JAISWAL, 2016; WANG *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2016).

## **APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS**

A tecnologia de microalgas é versátil; portanto, possibilita inúmeras aplicações biotecnológicas, destacando-se: biocombustíveis, químicos finos e bioprodutos de valor agregado, tratamento de efluentes e mitigação de aquecimento global pela assimilação fotossintética de gases de efeito estufa (GIRALDO CALDERÓN; DÍAZ BAYONA; ATEHORTÚA GARCÉS, 2018).

Microalgas, predominantemente, oleaginosas aptas ao armazenamento de consideráveis teores de proteínas e carboidratos sob microclimas atípicos são alternativas ideais à redução de custo total de produção comercial de biodiesel, devido à possibilidade de obtenção de matérias-primas valorizadas, industrialmente. As espécies, *B. braunii*, *C. vulgaris*, *Cryptocodium cohnii*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica* e *Dunaliella maritima*, são alternativas à biorrefinaria, devido à indiscutível qualidade de biomassa, composta por lipídeos, ácidos graxos de cadeia longa, exopolissacarídeos *etc.* O gênero, *Neochloropsis sp.*, é excelente fonte proteica à formulação de alimentos funcionais e dietas para animais, monogástricos e ruminantes (CHEIRSILP; THAWECHAI; PRASERTSAN, 2017; CHISTI, 2007; GIRALDO CALDERÓN; DÍAZ BAYONA; ATEHORTÚA GARCÉS, 2018; MARUDHUPANDI *et al.*, 2014; RAMESH KUMAR *et al.*, 2018).

As microalgas, *Isochrysis zhangjiangensis*, *Haematococcus pluvialis* e *S. rubescens*, particularmente, destacam-se pela substancial produtividade de lipídeos. Entretanto, o material oleaginoso é concentrado em hidrocarbonetos polinsaturados que proporcionam instabilidade oxidativa ao biodiesel, tornando-o, problematicamente, transportável e armazenável. Os ácidos graxos de cadeia longa, linoleico, eicosapentaenóico e docosa-hexaenóico, são atrativos à industrialização de alimentos funcionais e biofármacos. Portanto, as espécies em questão se qualificariam como opções ao co-cultivo (DAMIANI *et*

al., 2010; FENG *et al.*, 2011; LIN; LIN, 2011).

A pesquisa científica de remoção de nutrientes e produção de lipídeos por *Coelastrella sp.*, cultivada em água residual de suinocultura digerida, aeróbica e anaerobicamente, conduzida por Luo *et al.* (2016), comprova o potencial do gênero ao tratamento de efluente. Complementarmente, *Lemna aequinoctialis*, *Oscillatoria tenuis* e *S. obliquus* são, tecnicamente, viáveis à produção alternativa de biodiesel pela biorremediação de ambientes contaminados por nitrogênio e fósforo (ZHANG *et al.*, 2018; ZHOU *et al.*, 2014).

Opções ao co-cultivo, *C. vulgaris*, *Ettlia texensis*, *S. obliquus*, *A. falcatus*, *Skeletonema marinoi* e *T. suecica*, são possíveis biofloculantes à colheita sustentável de biomassa, dificultada pela dimensão, densidade e cargas negativas de células em suspensão. A introdução de auto-floculantes ao meio, agregá-las-ia, tornando-as, facilmente, removíveis (GUO; YAO; HUANG, 2015, 2015; SALIM *et al.*, 2011; SALIM; VERMUE; WIJFFELS, 2012; TAYLOR; RAND; CALDWELL, 2012). Registrem-se, portanto, aplicações biotecnológicas de microalgas (Tabela 14).

| Microalga            | Filo               | Biocomposto(s)   | Aplicações  | Referência   |
|----------------------|--------------------|--|---|--|
| <i>B. braunii</i>    | <i>Chlorophyta</i> | Lipídeos;<br>Ácidos graxos de cadeia longa<br>Exopolissacarídeos   | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Alimentos funcionais;<br>Bioetanol;<br>Biogás;<br>Biohidrogênio<br>Blocos construtores;<br>Biopolímeros;<br>Bioplásticos   | Giraldo-Calderón,<br>Díaz-Bayona e<br>Atehortúa-Garcés<br>(2018)   |
| <i>Chlorella sp.</i> | <i>Chlorophyta</i> | Lipídeos;<br>Carboidratos;<br>Proteínas;<br>Aminoácidos;<br>Biofloculantes;<br>Ácidos graxos de cadeia longa;<br>Pigmentos | Biodiesel;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Bioetanol;<br>Biogás;<br>Biohidrogênio;<br><i>Pellets</i><br>Blocos construtores;<br>Biopolímeros;<br>Bioplásticos;<br>Co-cultivo de biomassa;<br>Alimentos funcionais;<br>Rações;<br>Sequestro de CO <sub>2</sub> ;<br>Corantes;<br>Cosméticos;<br>Tratamento de efluentes | Franco Trabucco <i>et al.</i> (2011)<br>Hempel, Petrick e Behrendt (2012)<br>Salim, Vermuë e Wijffels (2012)<br>Xie <i>et al.</i> (2013)<br>Álvarez <i>et al.</i> (2016)<br>Unterlander, Champagne e Plaxton (2017)<br>Wong <i>et al.</i> (2017) |
| <i>S. obliquus</i>   | <i>Chlorophyta</i> | Lipídeos;<br>Biofloculantes  | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Tratamento de efluentes<br>Co-cultivo de biomassa  | Mandal e Mallick (2009)<br>Salim <i>et al.</i> (2011)<br>Salim, Vermuë e Wijffels (2012)<br>Guo, Yao e Huang (2015)<br>Salama <i>et al.</i> (2017)<br>Zhang <i>et al.</i> (2018)   |



|                         |                      |                             |   |  |
|-------------------------|----------------------|-----------------------------|---|--|
| <i>A. falcatus</i>      | <i>Chlorophyta</i>   | Lipídeos;<br>Biofloculantes | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Co-cultivo de biomassa   | Salim <i>et al.</i> (2011)<br>Jayanta, Chandra e<br>Chandra (2012)<br>Salim, Vermuë e<br>Wijffels (2012) |
| <i>E. texensis</i>      | <i>Chlorophyta</i>   | Lipídeos;<br>Biofloculantes | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Co-cultivo de biomassa   | Salim <i>et al.</i> (2011)<br>Salim, Vermuë e<br>Wijffels (2012)   |
| <i>Coelastrella sp.</i> | <i>Chlorophyta</i>   | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Tratamento de efluentes  | (LUO <i>et al.</i> , 2016)   |
| <i>O. tenuis</i>        | <i>Cyanobacteria</i> | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Tratamento de efluentes  | Zhang <i>et al.</i> (2018)   |
| <i>N. oculata</i>       | <i>Ochrophyta</i>    | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Taylor, Rand e<br>Caldwell (2012)<br>Dianursanti, Sistiafi<br>e Putri (2018)                             |
| <i>N. salina</i>        | <i>Chlorophyta</i>   | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Chatsungnoen e<br>Chisti (2016)  |
| <i>D. tertiolecta</i>   | <i>Chlorophyta</i>   | Lipídeos;<br>Carboidratos   | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Bioetanol;<br>Biogás;<br>Biohidrogênio;<br>Blocos construtores;<br>Biopolímeros;<br>Bioplásticos | Lee <i>et al.</i> (2013)   |
| <i>A. obliquus</i>      | <i>Chlorophyta</i>   | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Pandit, Fulekar e<br>Karuna (2017)   |
| <i>D. abundans</i>      | <i>Chlorophyta</i>   | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Griffiths e Harrison<br>(2009)   |
| <i>C. reinhardtii</i>   | <i>Chlorophyta</i>   | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Kim <i>et al.</i> (2013)<br>Shah <i>et al.</i> (2014)  |
| <i>P. lutheri</i>       | <i>Haptophyta</i>    | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Fan <i>et al.</i> (2014)   |

|                            |                        |                             |  |  |
|----------------------------|------------------------|-----------------------------|--|--|
| <i>A. subtropical</i>      | <i>Bacillariophyta</i> | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes   | Benmoussa-Dahmen<br><i>et al.</i> (2016)   |
| <i>Dunaliella sp.</i>      | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes   | Benmoussa-Dahmen<br><i>et al.</i> (2016)   |
| <i>N. oleoabundans</i>     | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos;<br>Carboidratos   | Biodiesel;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Bioetanol;<br>Biogás;<br>Biohidrogênio;<br>Blocos construtores;<br>Biopolímeros;<br>Bioplásticos | Salim <i>et al.</i> (2011)<br>Salim, Vermuë e<br>Wijffels (2012)<br>Sun <i>et al.</i> (2014) |
| <i>S. incrassatulus</i>    | <i>Charophyta</i>      | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Arias-Peñaranda <i>et al.</i> (2013)<br>Mandotra <i>et al.</i> (2016)                        |
| <i>S. abundans</i>         | <i>Charophyta</i>      | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Arias-Peñaranda <i>et al.</i> (2013)<br>Mandotra <i>et al.</i> (2016)                        |
| <i>S. almeriensis</i>      | <i>Charophyta</i>      | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Acién <i>et al.</i> (2012)   |
| <i>Desmodesmus sp.</i>     | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes  | Zhang <i>et al.</i> (2016)   |
| <i>T. suecica</i>          | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos;<br>Biofloculantes | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Co-cultivo de biomassa  | Salim <i>et al.</i> (2011)<br>Salim, Vermuë e<br>Wijffels (2012)                             |
| <i>S. marinoi</i>          | <i>Bacillariophyta</i> | Lipídeos;<br>Biofloculantes | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Co-cultivo de biomassa  | Taylor, Rand e<br>Caldwell (2012)  |
| <i>Nannochloropsis sp.</i> | <i>Ochrophyta</i>      | Lipídeos;<br>Proteínas      | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Alimentos funcionais;<br>Rações;<br>Sequestro de CO <sub>2</sub>                    | Cheirsilp, Thawechai<br>e Prasertsan (2017)  |
| <i>Chlamydomonas sp.</i>   | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos                    | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Tratamento de efluentes   | Calixto <i>et al.</i> (2016)   |

|                                    |                        |          |  |   |
|------------------------------------|------------------------|----------|--|---|
| <i>Synechocystis</i><br><i>sp.</i> | <i>Cyanobacteria</i>   | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes;<br>Tratamento de efluentes | Lal e Das (2016)                                    |
| <i>P. kessleri</i>                 | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes                             | Taleb <i>et al.</i> (2016)                          |
| <i>N. gaditana</i>                 | <i>Ochrophyta</i>      | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes                             | Taleb <i>et al.</i> (2016)                          |
| <i>C. minor</i>                    | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes                             | Chatsungnoen e<br>Chisti (2016)                     |
| <i>C. fusiformis</i>               | <i>Bacillariophyta</i> | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes                             | Chatsungnoen e<br>Chisti (2016)                     |
| <i>Nannochloris</i> <i>sp.</i>     | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes                             | Chatsungnoen e<br>Chisti (2016)                     |
| <i>E. compressa</i>                | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes                             | Suganya,<br>Nagendra-Gandhi e<br>Renganathan (2013) |
| <i>C. meneghiniana</i>             | <i>Bacillariophyta</i> | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes                             | Wiltshire <i>et al.</i><br>(2000)                   |
| <i>M. aeruginosa</i>               | <i>Cyanobacteria</i>   | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes                             | Wiltshire <i>et al.</i><br>(2000)                   |
| <i>Micractinium</i> <i>sp.</i>     | <i>Chlorophyta</i>     | Lipídeos | Biodiesel;<br>Bio-óleo;<br>Biolubrificantes;<br>Surfactantes                             | Onay <i>et al.</i> (2014)                           |

Tabela 14. Principais aplicações de microalgas à biorrefinaria

O filo, *Chlorophyta*, reúne as principais espécies aplicadas à produção de biodiesel. O gênero, *Chlorella* *sp.*, amplamente, distribuído em ecossistemas aquáticos naturais, dulcícolas e marinhos, destaca-se pela diversidade genética, acessibilidade, adaptabilidade fisiológica à hostilidade, produtividades de biomassa e lipídeos, qualidade de perfil de ácidos graxos e potenciais de fitorremediação de ambientais contaminados e biofixação de CO<sub>2</sub>. Pesquisas o descrevem como componente predominante de comunidade fitoplanctônica. Apesar das vantagens, *Chlorella* *sp.* é constituída por parede celular, relativamente, resistente à digestão anaeróbica. A inércia à degradação microbiana limita reciclagem de biomassa residual em processos correlatos à biorrefinaria, como: produção de biogás e

biofertilizante (KAUR *et al.*, 2012; MUSSGNUMG *et al.*, 2010; SINGH; SINGH, 2014; TALEBI *et al.*, 2013).

As espécies, *C. vulgaris*, *C. saccharophila*, *C. minutissima*, *C. sorokiniana*, *C. ellipsoidea*, *C. zofingiensis*, *C. pyrenoidosa* e *C. protothecoides*, são excelentes acumuladoras de lipídeos neutros, carboidratos, proteínas, aminoácidos, pigmentos e ácidos graxo polinsaturados, justificando-se, portanto, a preferência, em relação à seleção de microalgas à biorrefinaria. Pesquisas científicas comprovam: *C. vulgaris* é, impressionantemente, capaz de estocar 70,0 a 80,0 % de lipídeos. Potencial bioquímico de metano e eficácia ao tratamento de efluentes, convertendo-os em biomassa útil à geração de biocombustíveis, químicos finos e bioprodutos de valor agregado complementam a extensa lista de *superávits* biotecnológicos, tornando-as competitivas à biorrefinaria (CHOI; JANG; KAN, 2018; DIANURSANTI; SISTIAFI; PUTRI, 2018; HEMPEL; PETRICK; BEHRENDT, 2012; HENA *et al.*, 2015; IDRIS *et al.*, 2017; MARUDHUPANDI *et al.*, 2014; RAMSUNDAR *et al.*, 2017; TALEB *et al.*, 2016; WIECZOREK; KUCUKER; KUCHTA, 2014).

# CULTIVO SUSTENTÁVEL

A tecnologia de microalgas é, comprovadamente, promissora à terceira geração de bicomcombustíveis. Todavia, considerável necessidade de água-doce e oneroso investimento financeiro em aquisição de fertilizantes minerais a tornam, economicamente, inviável em larga escala e prejudicial ao meio ambiente, devido ao substancial consumo de energia elétrica, dependência de energia fóssil e emissão de gases de efeito estufa à atmosfera, principalmente, CO<sub>2</sub>. Efluentes e resíduos sólidos são, portanto, prováveis opções à substituição, parcial ou totalitária, de água-doce e fertilizantes sintéticos. Complementarmente, há possibilidade de redução de custo total de produção de biodiesel de microalga, anexando-se cultivo a fábricas de bioenergia (MORADI-KHEIBARI; AHMADZADEH; HOSSEINI, 2017; RAWAT et al., 2013a).

## EFLUENTES E RESÍDUOS SÓLIDOS

Efluentes e resíduos sólidos, agropecuários, agroindustriais, florestais e urbanos, digeridos, aeróbica ou anaerobicamente, são estratégias de baixo custo à produção de microalgas: disponibilidade de carga mineral é, absolutamente, capaz de nutri-las, possibilitando-lhes convertê-la em elementos funcionais à fotossíntese e metabolismo energético. Complementarmente à colaboração à redução de demandas de água-doce e fertilizantes minerais sintéticos, possibilitam colheita de matéria-prima de ótima qualidade, útil à industrialização de biodiesel. A produção de biomassa de microalga por água residual necessita, entretanto, de comprovação em escala comercial: turbidez, toxidez e propensão natural à contaminação microbiana são problemas que inviabilizam o crescimento celular saudável (DENG et al., 2018; LUO et al., 2016; SALAMA et al., 2017; SIVARAMAKRISHNAN; INCHAROENSAKDI, 2018).

Efluentes de bovinocultura leiteira, suinocultura, aquicultura, indústria de celulose e papel, processamento de óleo de palma, usina sucroenergética e municípios são alternativas, experimentalmente, aplicadas à ficologia. A biodiversidade de microalgas é magnífica. Entretanto, há espécies sensíveis a águas residuais concentradas em nitratos e fosfatos: níveis de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> superiores a 4,0 g L<sup>-1</sup> inibem o crescimento, drasticamente; remoção de excesso de amônio por termotratamento a vácuo viabilizaria a multiplicação de células de *C. vulgaris* em efluente de suinocultura, minimamente, diluído. Salinidade e coexistência de contaminantes são adversidades complementares que obrigam a seleção de indivíduos resilientes, ou seja: aptos à produção de biomassa de qualidade sob restrições ambientais (CALIXTO et al., 2016; DENG et al., 2018; GENTILI, 2014; HENA et al., 2015; JEBALI et al., 2015; KLIGERMAN; BOUWER, 2015; LAM; LEE, 2012; MANDAL; MALLICK, 2009; RAMIREZ et al., 2014; ZHU et al., 2017). O cultivo alternativo de *C. vulgaris* em efluente de suinocultura proporciona condições, razoavelmente, satisfatórias à produção de lipídeos neutros por ficoremediação de carga mineral. As vantagens da tecnologia são: economia de custo de aquisição de fertilizantes minerais, independência de produtos químicos nocivos à natureza, conversão de resíduo em biomassa útil e biofixação de CO<sub>2</sub> (JI et al., 2013). Os autores enfatizam que a produtividade de lipídeos e perfil de ácidos graxos são, proporcionalmente, influenciados por turbidez; por isso, sugerem diluição de

meio que permita completa penetração de luz.

A turbidez, parâmetro físico de qualidade de meio, influencia produção de lipídeos e perfil de ácidos graxos de *C. vulgaris*., cultivada em água residual de laticínio (Tabela 15), devido à insatisfatória transferência de luz (CHOI; JANG; KAN, 2018; MANDOTRA *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2017).

| Ácido graxo (%)      | Água residual x 1 | Água residual x 10 | Meio BG-11 |
|----------------------|-------------------|--------------------|------------|
| Ácido láurico        | -                 | -                  | -          |
| Ácido mirístico      | -                 | -                  | -          |
| Ácido pentadecanóico | -                 | -                  | -          |
| Ácido palmítico      | 4,97              | 10,99              | 6,38       |
| Ácido esteárico      | 52,63             | 52,95              | 56,73      |
| Ácido oleico         | 16,50             | 19,80              | 9,33       |
| Ácido elaídico       | -                 | -                  | -          |
| Ácido linoleico      | -                 | 11,37              | 4,43       |
| Ácido gama-linoleico | -                 | 3,21               | -          |
| Ácido araquídico     | 18,54             | 29,87              | 16,15      |
| Ácido eicosanóico    | -                 | -                  | -          |
| Ácido araquidônico   | -                 | -                  | -          |
| Ácido docosanóico    | 7,03              | 6,52               | 6,57       |
| Ácido docosenóico    | -                 | -                  | -          |
| Ácido lignocérico    | -                 | -                  | -          |

Tabela 15. Perfil de ácidos graxos de *C. vulgaris*, cultivada em água residual de laticínio diluída  
CHOI; JANG; KAN, 2018

A multiplicação de células de *C. vulgaris* em efluente, minimamente, diluído, reduz, sensivelmente, os percentuais dos ácidos graxos saturados, palmítico e esteárico, importantíssimos à qualidade energética de biodiesel. Todavia, há acréscimo em  $\omega$ -3, requisitado à fabricação de alimentos funcionais e biofármacos. Acentuada diluição intensifica síntese dos ácidos, palmítico e araquídico, associados ao grau de saturação e estabilidade oxidativa de biocombustível, permitindo-lhe estoque e transporte prolongados. Adicionalmente, favorece as disponibilidades de  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6, hidrocarbonetos de cadeia longa de valor agregado. O emprego de água residual de laticínio (diluída) ao cultivo alternativo de *C. vulgaris* é promissor, pois melhoraria o perfil de ácidos graxos, acentuadamente, predispondo-o à transesterificação de biodiesel de qualidade superior, priorizado por mercados internacionais rigorosos, e refino de bioprodutos de valor agregado, benéficos à qualidade de vida social. Água residual de laticínio, rica em nitrogênio, fósforo e matéria orgânica, é excelente opção de baixo custo à ficologia. Todavia, há espécies fotoautotróficas que crescem, insatisfatoriamente, devido à turbidez. É possível resolver o problema de qualidade de transparência de meio, diluindo-o (CHOI; JANG; KAN, 2018; CHOKSHI *et al.*,

2016; GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; HENA *et al.*, 2015).

O cultivo fotoautotrófico de *Chlorella sp.* em meios alternativos, vinhaça, esgoto doméstico e biocomposto de avicultura, à temperatura de  $25 \pm 1$  °C, ciclo fotoperiódico de 12: 12 h, intensidade de iluminação artificial fluorescente de  $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , conduzido por Calixto *et al.* (2016), reafirma o potencial de efluentes à melhoria de perfil de ácidos graxos, principalmente, em relação aos ácidos graxos, palmítico e esteárico (Figura 15).

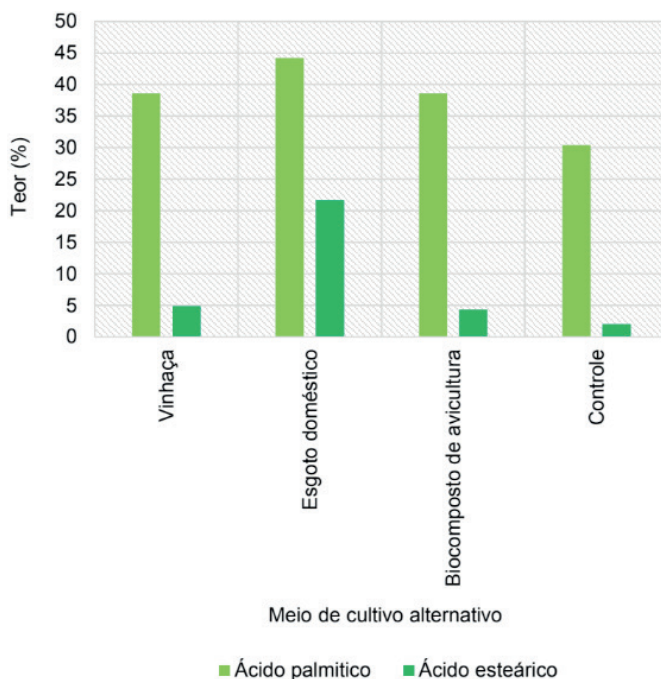


Figura 15. Disponibilidades dos ácidos graxos saturados, palmítico e esteárico, em biomassa de *Chlorella sp.*, cultivada em vinhaça, esgoto doméstico e biocomposto de avicultura CALIXTO *et al.*, 2016.

A clorófitica, *C. vulgaris*, cultivada em vinhaça e água residual de industrialização de bioetanol de primeira geração, oferece ótimos rendimentos produtivos de biomassa e lipídeos, desde que os efluentes sejam, previamente, digeridos, aeróbica ou anaerobicamente, eliminando-se agentes tóxicos à fisiologia. O tratamento convencional de vinhaça é oneroso. Por isso, o coproduto é, comumente, aplicado à fertirrigação de canavia. Todavia, custos de transporte e manejo de solo são desencorajadores, além de haver possibilidade de prejudicar a fertilidade, devido à incidência de compostos, orgânicos e minerais, nocivos. A tecnologia de microalgas reaproveitá-la-ia, valorizando-a (MARQUES *et al.*, 2013; RYAN *et al.*, 2008; XIE *et al.*, 2013).

Embora, relativamente, não populares, águas residuais de aquicultura, atividade agropecuária que, se manejada, incorretamente, prejudica ecossistemas aquáticos naturais

e qualidade de vida social pela emissão de nitrito, principalmente, oportunizam cultivo sustentável de microalgas. (SHI; PODOLA; MELKONIAN, 2014). Heidari, Farhadian e Mahboobi (2011), autores da pesquisa científica de produção de biomassa e fitorremediação de amônia e nitrito de efluente de piscicultura por *Scenedesmus quadricauda*, enfatizam o potencial nutritivo do material, sugerindo-o, então, à substituição de água-doce e fertilizantes minerais.

O cultivo de microalgas associado ao manejo de efluentes por fotobioreator vertical é a principal tecnologia aplicada ao tratamento de águas residuais e geração de biomassa, simultaneamente. As principais vantagens são, indiscutivelmente: escalabilidade, significativa capacidade de fitorremediação e economia de custos de instalação e manutenção de sistema. Oneroso custo de separação de água tratada e biomassa, e insatisfatória produtividade são, entretanto, limitações técnico-econômicas (CHEIRSILP; THAWECHAI; PRASERTSAN, 2017; KUMAR *et al.*, 2015; SALAMA *et al.*, 2017; SHI; PODOLA; MELKONIAN, 2014; WANG; LIU; LIU, 2015).

## SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO BIOENERGÉTICA

O sistema integrado de produção de biodiesel e biogás de biomassa residual de microalga digerida, aerobicamente, planejado por Collet *et al.* (2011), é estratégia à redução de custos e otimização de balanço energético. Segundo os autores, combustão de metano gera energia suficiente para superar dispêndios associados às etapas de cultivo e colheita, digestão e purificação (Tabela 16).

| Etapa  | Valor                    | Unidade        |
|--|--------------------------|----------------|
| <b>Cultivo e colheita</b>                      |                          |                |
| Fluxo de lagoa aberta                          | 3,007                    | m <sup>3</sup> |
| Consumo de nitrogênio                          | 8,85 x 10 <sup>-3</sup>  | Kg             |
| Consumo de fósforo                             | 2,69 x 10 <sup>-3</sup>  | Kg             |
| Consumo de potássio                            | 1,150 x 10 <sup>-3</sup> | Kg             |
| Consumo de CO <sub>2</sub>                     | 1,172                    | Kg             |
| Consumo elétrico de injeção de CO <sub>2</sub> | - 0,0289                 | KWh            |
| Consumo elétrico de agitador mecânico          | - 0,200                  | KWh            |
| <b>Estabilização</b>                           |                          |                |
| Fluxo  | 0,1                      | m <sup>3</sup> |
| Consumo elétrico                               | - 0,042                  | KWh            |
| <b>Centrifugação</b>                           |                          |                |
| Fluxo  | 0,02                     | m <sup>3</sup> |
| Consumo energético                             | - 0,042                  | KWh            |
| <b>Digestão anaeróbica</b>                     |                          |                |
| Produção de biogás                             | 0,375                    | m <sup>3</sup> |
| Consumo elétrico de homogeneizador             | - 0,108                  | KWh            |



|                                   |          |                |
|-----------------------------------|----------|----------------|
| Consumo elétrico de centrifugador | - 0,0252 | KWh            |
| Consumo térmico de biogás interno | - 0,68   | KWh            |
| Purificação                       |          |                |
| Metano, 96 % volume               | 0,201    | m <sup>3</sup> |
| Consumo elétrico                  | - 0,083  | KWh            |
| Consumo de água                   | - 0,067  | m <sup>3</sup> |
| SUBTOTAL                          | - 1,151  | KWh            |
| Combustão                         |          |                |
| Metano                            | + 2,00   | KWh            |
| SALDO                             | + 0,849  | KWh            |

Tabela 16. Fluxos de energia e massa gerados pela produção de 1 kg de biomassa de microalga, aplicada à produção integrada de biodiesel e biogás

COLLET *et al.*, 2011

Cogitando-se melhorias à produção integrada de biodiesel de terceira geração em sistema de lagoas superficiais amplas, Maranduba *et al.* (2016) avaliaram os cenários: (I) pirólise de coprodutos de cultivo de microalga; (II) co-digestão anaeróbica de biomassa residual e resíduos sólidos de bovinocultura de corte; (III) pirólise de biomassa residual e destilaria de bioetanol de cana-de-açúcar; e (IV) co-digestão anaeróbica de biomassa residual e destilaria de bioetanol. Os autores comprovaram ótimos balanço energético e relação de energia fóssil em I e III, respectivamente, atribuindo-os ao notável potencial de síntese de óleo pirolítico e reaproveitamento de glicerol. A vantagem dos cenários remanescentes é o biogás.

Alternativa econômica à conversão de carga mineral disponível em águas residuais em bioprodutos de valor agregado e recursos energéticos sustentáveis, o sistema de fotobioreator vertical otimizado por biofilme de microalgas, proposto por Zhang *et al.* (2018), consome, diariamente: 7,52; 6,76 e 0,11 g m<sup>-2</sup> de CO<sub>2</sub>, nitrogênio e fósforo, respectivamente; as produtividades de lipídeos, proteínas e carboidratos são, respectivamente: 7,47; 10,10 e 10,69 a 14,20 t ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. Os rendimentos de metano, biodiesel e energia térmica são, aproximadamente: 21,47 a 29,14 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, 0,57 a 1,15 t ha<sup>-1</sup> e 46,46 x 10<sup>3</sup> MJ ha<sup>-1</sup>, respectivamente. O considerável volume de metano gerado compensa a restrita produtividade de biodiesel, ressaltam os autores.

# INDUÇÃO DE SÍNTESE DE LIPÍDEOS

Nutrição, iluminação artificial, ciclo fotoperiódico, temperatura, pH e CO<sub>2</sub> são, inquestionavelmente, os principais fatores que alteram síntese e composição de lipídeos. Manipulá-los significaria, portanto, regular rotas bioquímicas associadas à produção de triacilgliceróis (CHO *et al.*, 2013; SUTHAR; VERMA, 2018).

## NUTRIÇÃO

A síntese atípica de lipídeos é desencadeada por condições de estresse, principalmente, em relação à disponibilidade de nutrientes. Nitrogênio (N) e fósforo (P) são elementos-chave ao crescimento: o primeiro é essencial à síntese de proteínas e pigmentos, enquanto o último afeta geração e transferência energéticas, e multiplicação celular. Privação nitrogenada altera dinâmica de carbono e, conseqüentemente, induz o indivíduo à produção de lipídeos, ao invés de proteínas e carboidratos, favorecidos em meios concentrados em N e P. A estratégia de controle de nutrição é estimular mecanismos adaptativos latentes (IDRIS *et al.*, 2017).

Wong *et al.* (2017) maximizaram o teor de lipídeos em *C. vulgaris*, multiplicando-a sob limitada oferta de fósforo. Há relação direta entre teor de lipídeos e duração de estresse nutricional (ZHU *et al.*, 2017). Pruvost *et al.* (2011) alteraram, sensivelmente, percentuais de lipídeos em *C. vulgaris*, *Neochloris oleoabundans* e *Cylindrotheca closterium*, expondo-as à restrição nitrogenada (Figura 16).

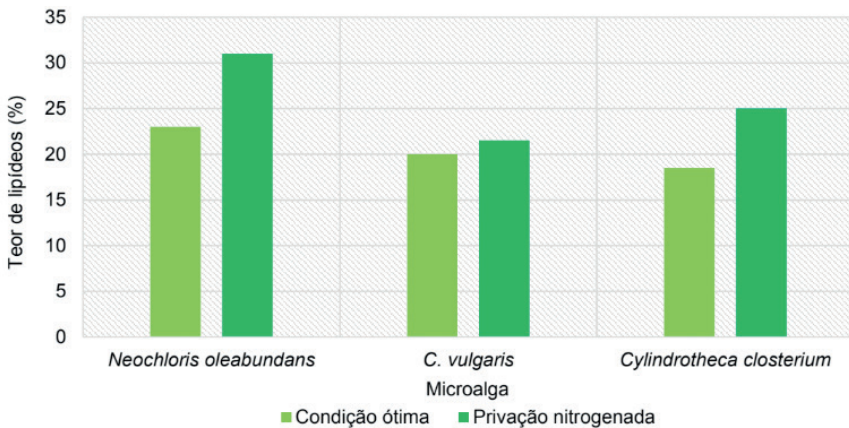


Figura 16. Produção de lipídeos das microalgas, *C. vulgaris*, *Neochloris oleoabundans* e *Cylindrotheca closterium*, cultivadas sob restrição nitrogenada

PRUVOST *et al.*, 2011.

Os mecanismos de síntese de lipídeos, em microalgas sob restrição nutricional, são, especificamente, regulados por inúmeros genes, incluindo-se:  $\beta$ -cetoacetil-ACP sintase II,  $\Delta 9$ -estearoil-ACP desaturase, oleoil-ACP tioesterase,  $\Delta 12$  desaturase e  $\Delta 15$  desaturase. Por isso, é, completamente, natural que microalgas sob condições de privação nitrogenada idênticas proporcionem distintos percentuais de lipídeos (PRUVOST *et al.*, 2011).

Embora promova síntese de lipídeos, limitada disponibilidade de nutrientes afeta ritmo de crescimento específico e, conseqüentemente, produtividade de biomassa. Por isso, orienta-se promovê-la, cautelosamente. Sistemas de cultivo organizados em etapas complementares de restrição e suplementação nutricionais possibilitam ótimos rendimentos de lipídeos e biomassa, simultaneamente: insatisfatória concentração celular inicial, devido à oferta controlada de nitratos e fosfatos, é, posteriormente, compensada pela aplicação de nutrientes em fase exponencial (MUJTABA *et al.*, 2012; XIE *et al.*, 2013).

O estudo científico de intensificação de produção de biodiesel de *C. vulgaris*, cultivada sob restrição nutricional, realizado por Jeon *et al.* (2017), comprova que, além de nitrogênio e fósforo, nanopartículas de sílica estimulam síntese de lipídeos. Restrição nutricional é, consensualmente, a principal estratégia aplicada à indução de síntese de lipídeos (YEN *et al.*, 2013).

## ILUMINAÇÃO ARTIFICIAL

Intensidade e qualidade de iluminação artificial afetam eficiência fotossintética e, invariavelmente, crescimento específico e síntese de lipídeos. À obtenção de máxima produtividade, deve-se distribuir a luz pelo fotobioreator, uniformemente. O estresse luminoso altera conteúdo e qualidade de óleo em *C. pyrenoidosa*, *Scenedesmus sp.*, *Amphora subtropical* e *Dunaliella sp.*: sob alta intensidade, há decréscimo em teor de lipídeos polares, enquanto triglicerídeos são beneficiados. Por isso, a importância de fonte de fótons (BENMOUSSA-DAHMEN *et al.*, 2016; FAN *et al.*, 2014; PANCHAS; CHOKSHI; MISHRA, 2015; WAHIDIN; IDRIS; SHALEH, 2016; YEN *et al.*, 2013).

O estudo científico de cultivo de *C. vulgaris* em fotobioreator iluminado por painel de LED, conduzido por Atta *et al.* (2013), revela: intensidade luminosa de 200  $\mu\text{mol s}^{-1}$  fótons  $\text{m}^{-2}$ , associada ao ciclo fotoperiódico de 12: 12 h, proporciona máximo teor de lipídeos. Intensidades superiores limitam o crescimento por foto-oxidação, fenômeno que ocasiona danos ao fotossistema II, anexado à membrana de tilacóide. O problema é resolvido, adequando-se fotoperíodo. A tecnologia de LED é alternativa imediata à fluorescência. Os principais benefícios, técnico-econômicos, são: restrito consumo energético, longevidade e limitada dissipação de calor, completam os autores.

## CICLO FOTOPERIÓDICO

O fotoperíodo é essencial ao crescimento microalgal: alternância de horas de luz e escuro determina, parcialmente, saldos de ATP e NADP, em fase fotoquímica. Os substratos energéticos em questão são precursores de síntese de glicose, monossacarídeo produzido em regime de fotoindependência. Equilibrá-lo significaria, portanto, induzir ou inibir rotas

bioquímicas de lipídeos, proteínas, carboidratos *etc.*

A pesquisa científica de produção de *C. vulgaris* sob condições abióticas variáveis, conduzido por Suthar e Verma (2018), indica que o ciclo fotoperiódico ideal à indução de síntese de lipídeos é 18: 6 h. O excesso de luz a inibiria por saturação, advertem os autores. Lam e Lee (2012) comprovaram, previamente, o fato, ao experimentarem os fotoperíodos, 2: 22, 6: 18, 9: 15, 12: 12 e 24: 0 h, ao cultivo alternativo de *C. vulgaris* em meios compostos por biofertilizantes, e ajustarem regressões polinomiais à produção de lipídeos. Sob a perspectiva dos autores, extremos de fotoperíodo são desfavoráveis à fotossíntese líquida e expressão de genes associados a substâncias lipídicas.

## TEMPERATURA

A temperatura influencia crescimento específico, concentração e composição de biomassa, produtividade e perfil de ácidos graxos de lipídeos. Em *Nannochloropsis salina* e *Ochromonas danica*, especialmente, há intensificação de concentração de triacilgliceróis, à medida que a variável física se eleva. Existe, entretanto, microalga, circunstancialmente, indiferente ao estímulo térmico: *C. sorokiniana* (CHOKSHI *et al.*, 2016; HU *et al.*, 2008; RAMESH KUMAR *et al.*, 2018).

Segundo Suthar e Verma (2018), que multiplicaram células de *C. vulgaris*, fotoautotroficamente, expondo-as a pH 8,0, ciclo fotoperiódico de 18: 6 h, 50 e 17,5 mg L<sup>-1</sup> de nitrato e fosfato, respectivamente, temperaturas superiores a 30 °C induzem ao acúmulo de lipídeos, devido a estresses provocados por limitada produção de biomassa, ineficiente absorção de luz e complicada transferência energética. Ramesh Kumar *et al.* (2018) corroboraram o fato, ao submeterem a clorófitcea – mantida sob fotoperíodo de 12: 12 h e intensidade de iluminação de 2000 lux – à temperatura de 550 °C, por 2 h, intermitentemente.

## PH

O pH influencia taxa de difusão de CO<sub>2</sub> e acessibilidade a nutrientes essenciais ao crescimento específico e concentração de biomassa: valores inferiores a 5,0, ou superiores a 9,0, inibem, consideravelmente, fotossíntese e rotas bioquímicas associadas à síntese de carboidratos, lipídeos e proteínas; por isso, é, completamente, possível regular produção de óleo, estressando-se o meio pela adição de substâncias que alteram concentração de íons de hidrogênio em solução (SUTHAR; VERMA, 2018; WAHIDIN; IDRIS; SHALEH, 2016).

## SUBSTÂNCIAS: QUÍMICAS, ORGÂNICAS E BIOLÓGICAS

Soluções técnico-econômicas à glicose comercial, substrato de estimada utilidade industrial, glicerol e acetato de sódio oferecem possibilidades de indução de síntese de lipídeos em *C. vulgaris*. O crescimento de microalga pelo consumo exclusivo de acetato de sódio é denominado ciclo de glioxilato, associado, indiretamente, a rotas bioquímicas de produção de hidrocarbonetos oleaginosos (ESTÉVEZ-LANZÁBAL *et al.*, 2013). O

estresse salino é, complementarmente, aplicado às espécies, *Desmodesmus abundans*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Pavlova lutheri* e *C. pyrenoidosa*; os resultados de produtividade de lipídeos são virtuosos e comprovam a eficácia da técnica (FAN *et al.*, 2014; GRIFFITHS; HARRISON, 2009; SHAH *et al.*, 2014; XIA *et al.*, 2014).

A brefeldina, antiviral de lactona sintetizado pelo agente fúngico, *Penicillium brefeldianum*, aplicada em *Chlamydomonas reinhardtii* e *C. vulgaris*, estimula produção de lipídeos e melhora perfil de ácidos graxos, principalmente, em relação hidrocarbonetos saturados, palmítico e esteárico. A síntese induzida de triacilgliceróis é provocada pelo efeito modulador da substância biológica em atividade co-enzimática de acetil-COA, composto intermediário indispensável ao metabolismo celular (KIM *et al.*, 2013).

# TÉCNICAS DE COLHEITA DE BIOMASSA, PRÉ-TRATAMENTO E EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS

Processos intermediários de produção de biodiesel de terceira geração, colheita de biomassa e extração de lipídeos são onerosos, economicamente, e prejudiciais ao meio ambiente e qualidade de vida social, pois emitem substâncias tóxicas. Por isso, há urgência em melhorá-los, sustentavelmente. Propostas à centrifugação e solventes orgânicos, populares em escala industrial, incluem: floculação, filtração, flotação, sedimentação e imobilização, transesterificação *in situ*, líquidos iônicos e supercríticos *etc.* Métodos de pré-tratamento, fundamentados em lise celular, complementam-nas (CHEIRSILP; THAWECHAI; PRASERTSAN, 2017; GHIMIRE *et al.*, 2017; UMMALYMA *et al.*, 2017).

## COLHEITA

Etapa crítica à sustentabilidade de biorrefinaria, a colheita de biomassa em suspensão representa 20 a 30 % do custo total de síntese de biodiesel. Diminuto tamanho celular (50  $\mu\text{m}$ ), insignificantes concentração de biomassa (0,5 a 5,0 g L<sup>-1</sup>), densidade e gravidade específicas, e carga superficial negativa (- 7,5 a - 40,0 mV) são as principais características de microalga que a tornam desafiadora; grupos funcionais próton-ativos, carboxílico, hidroxila, amina, fosfórico *etc.*, são responsáveis pela dispersão de células em meio de cultivo, principalmente, em fase exponencial de crescimento (GHERNAOUT; GHERNAOUT, 2012; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; UMMALYMA *et al.*, 2017).

As técnicas, convencionalmente, aplicadas à colheita são: centrifugação, filtração, floculação, flotação, biofloculação, sedimentação, imobilização e coagulação. À escolha, orienta-se considerar, impreterivelmente, finalidade de cultivo: flotação e centrifugação, particularmente, são ideais à produção em larga escala de biocombustíveis, enquanto eletroforese, adequada à colheita de biomassa para industrialização de químicos finos e bioprodutos de valor agregado, pois é, relativamente, dispendiosa, devido ao expressivo consumo energético, insatisfatória capacidade operacional e necessidade de equipamentos e reagentes específicos. Custo acessível, baixo potencial de impacto ambiental, aplicabilidade e escalabilidade são, portanto, características desejáveis (CHEIRSILP; THAWECHAI; PRASERTSAN, 2017; LAL; DAS, 2016; SHARMA *et al.*, 2016; SHEN *et al.*, 2015; UMMALYMA *et al.*, 2017; VANDAMME *et al.*, 2011; VONSHAK; RICHMOND, 1988; ZHANG *et al.*, 2010, 2016).

## Centrifugação

A maioria das plantas industriais de produção de biodiesel de microalga emprega centrifugação à colheita de biomassa. Apesar de, aparentemente, onerosa, a tecnologia é viável, desde que químicos finos e bioprodutos valorizados pelas indústrias, alimentícia, farmacêutica, cosmética e têxtil, sejam, estrategicamente, gerados para compensar significativo consumo de energia elétrica, custos operacionais e moderada qualidade de biocombustível (CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016; HEO *et al.*, 2017; LAL; DAS, 2016).

À avaliação técnica de método de extração e quantificação de lipídeos para

produção em escala de biodiesel de microalga, Lohman *et al.* (2013) colheram as espécies, *P. tricornutum*, *C. reinhardtii* e *C. vulgaris*, aplicando-se força centrífuga de 5800 g, à temperatura de 4 °C, por 10 minutos. Os autores pontuaram secagem como fator antieconômico e extração de lipídeos de biomassa integral úmida como possível solução. (AL-LWAYZY; YUSAF; AL-JUBOORI, 2014). Hu *et al.* (2014), responsáveis pela pesquisa científica de produção de lipídeos para síntese de biodiesel, integrada à biofixação de CO<sup>2</sup>, efetuaram colheita de biomassa de *C. vulgaris* a 20000 g, por 15 minutos. Os parâmetros de centrifugação, velocidade de rotação ou força, temperatura e tempo de trabalho, são definidos por resistência mecânica celular, particular à espécie, tecnologia disponível e finalidade de cultivo, principalmente (Tabela 18).

| Microalga   | Velocidade de rotação ou força centrífuga | Temperatura (°C) | Tempo (min) | Referência                              |
|---|---|------------------|-------------|---|
| <i>C. vulgaris</i>  | 8000 rpm                                  | -                | 10          | Al-Lwayzy, Yusuf e Al-Juboori (2014)    |
| <i>Chlorella sp.</i> ;<br><i>Nannochloropsis sp.</i>                          | 1585 g                                    | -                | 15          | Cheirsilp e Torpee (2012)               |
| <i>C. vulgaris</i>  | 9056 g                                    | -                | 10          | Tran <i>et al.</i> (2012)               |
| <i>Chlorella sp.</i>  | 5000 rpm                                  | -                | 15          | Zhu <i>et al.</i> (2017)                |
| <i>C. vulgaris</i> ;<br><i>B. braunii</i>                                     | 16000 rpm                                 | 25               | -           | Sydney <i>et al.</i> (2011)             |
| <i>Chlorella sp.</i> ;<br><i>Chlorococcum sp.</i>                             | 4000 rpm                                  | -                | 10          | Pan <i>et al.</i> (2017)                |
| <i>C. vulgaris</i>  | 17000 g                                   | -                | 10          | Unterlander, Champagne e Plaxton (2017) |
| <i>Chlorella sp.</i> ;<br><i>Neochloris sp.</i> ;<br><i>Chlamydomonas sp.</i> | 5000 rpm                                  | -                | 5           | Gumbi <i>et al.</i> (2017)              |
| <i>C. vulgaris</i> ;<br><i>N. oculata</i>                                     | 4600 rpm                                  | 4                | 15          | Dianursanti, Sistiafi e Putri (2018)    |
| <i>C. vulgaris</i>  | 4500 rpm                                  | 4                | 15          | Choi, Jang e Kan (2018)                 |
| <i>C. vulgaris</i>  | 5800 g                                    | 4                | 10          | Lohman <i>et al.</i> (2013)             |
| <i>P. tricornutum</i> ;<br><i>C. reinhardtii</i> ;<br><i>C. vulgaris</i>      | 20000 g                                   | -                | 15          | Hu <i>et al.</i> (2014)                 |

Tabela 18. Parâmetros de centrifugação aplicada à colheita de microalgas

Há espécies que permitem colheita por filtração. Todavia, deposição de material orgânico extracelular em membrana causa obstrução de malha, tornando-a intransigente à limpeza, ou inutilizável. Complementarmente, é possível colher células suspensas por imobilização, aplicando-se a técnica de retenção ou aprisionamento em hidrogel de alginato, matriz biocompatível à solução tampão de carbonato de sódio; o produto é preferido à substituição de centrifugação pela inofensividade à natureza e sociedade, economia de custo de energia elétrica e praticidade em escala comercial (BABEL; TAKIZAWA, 2010;

## Floculação

Estabilidade celular é, principalmente, afetada por flutuabilidade, mobilidade e natureza eletroquímica superficial. O princípio de floculação é, portanto: promover agregação e sedimentação de biomassa por neutralização ou redução parcial de cargas negativas, introduzindo-se ao meio de cultivo, cátions multivalentes e, ou, polímeros (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ; BALLESTEROS, 2013; LAL; DAS, 2016).

Sulfatos e cloretos de ferro e alumínio, comuns ao tratamento de água e esgoto infestados por fitoplanctons, são exemplos notáveis de sais inorgânicos aplicados à colheita de biomassa por floculação (PAPAZI; MAKRIDIS; DIVANACH, 2010; SHARMA *et al.*, 2016). Sob a perspectiva de Chatsungnoen e Chisti (2016), tipo de floculante químico, além de pontual à eficiência de colheita, altera, irrisoriamente, disponibilidade de lipídeos em *C. minor*, *C. vulgaris*, *C. fusiformis*, *Neochloris sp.* e *Nannochloropsis salina* (Figura 17).

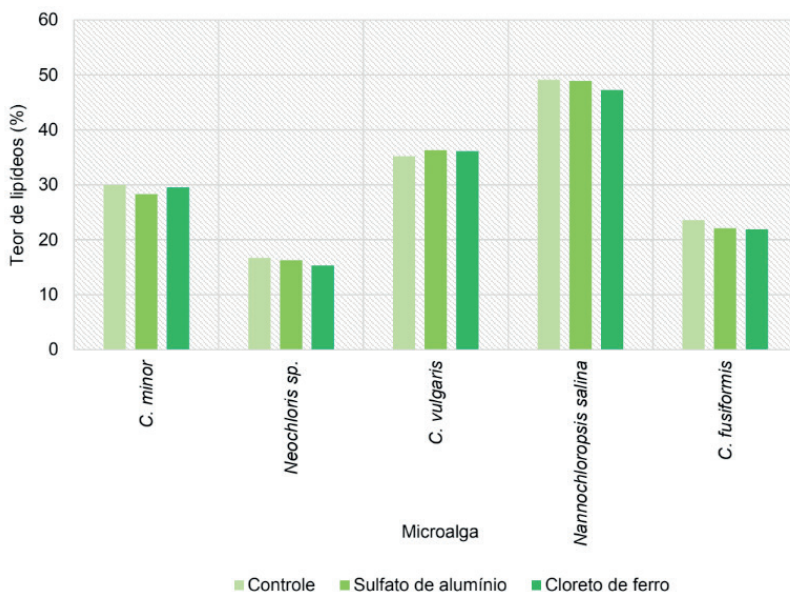


Figura 17. Teor de lipídeos em microalgas colhidas por floculação química CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016.

Apesar de atrativa à biorrefinaria, devido ao baixo custo e eficiência de colheita (Tabela 19), floculação química inviabiliza células, altera pigmentação e afeta condições de meio, tornando-o, circunstancialmente, inabitável; adsorção de material inorgânico à biomassa e, conseqüentemente, insatisfatórios processos de extração solvente, recuperação e purificação de lipídeos neutros constituem desvantagens adicionais (CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016; PAPAZI; MAKRIDIS; DIVANACH, 2010).



| Método                                   | Microalga            |                          | Custo (INR kg <sup>-1</sup> ) |
|--|----------------------|--------------------------|-------------------------------|
|  | <i>Chlorella sp.</i> | <i>Synechocystis sp.</i> |                               |
| Autofloculação por controle de pH        | 82,0                 | -                        | -                             |
| Floculação química por FeCl <sub>3</sub> | 98,0                 | 87,0                     | 160,0                         |
| Floculação química por Al                | 98,0                 | 93,0                     | 210,0                         |
| Biofloculação por quitosana              | 98,0                 | 88,0                     | 1066,0                        |
| Eletro-floculação                        | 98,0                 | 93,4                     | 79,80                         |

Tabela 19. Eficiência percentual e custo de colheita de métodos de floculação aplicados à produção de microalgas oleaginosas

LAL; DAS, 2016

Álvarez *et al.* (2016) corroboraram, parcialmente, os resultados prévios, ao experimentarem floculação, biofloculação e sedimentação à colheita alternativa de biomassa, e concluírem que os materiais inorgânicos, cloreto de alumínio, iodato de potássio e sulfato de cobre, são mais eficientes que ágar e goma-guar, polissacarídeo extraído de *Cyamopsis sp.*, gênero nativo da Índia. O rendimento técnico de floculante é, basicamente, influenciado por tipo e concentração, e densidade de células, discutem Salama *et al.* (2016), responsáveis pelo estudo científico de viabilidade de drenagem de mina ácida, rica em Fe<sup>2+</sup> e Al<sup>+3</sup>, à colheita sustentável das microalgas dulcícolas, *S. obliquus* e *C. vulgaris*.

Floculantes, metálicos e magnéticos, são confiáveis e exibem excelente capacidade de agregação de partículas em suspensão. Todavia, são, relativamente, onerosos e oferecem risco de contaminação ao cultivo (GRANADOS *et al.*, 2012; LIM *et al.*, 2012; PROCHAZKOVA; KASTANEK; BRANYIK, 2015). A respeito de eletro-floculação, Shuman *et al.* (2014) e Vandamme *et al.* (2011) advertem: o método é sustentável, independente à adição de químicos; porém, há necessidade de confirmação em escala. Não haveria, portanto, solução única à colheita de biomassa por floculação (Tabela 20). Por isso, orienta-se avaliá-la, considerando-se: espécie de microalga, tecnologia de cultivo, finalidade de biomassa, e categoria, expansividade, toxicidade, concentração e custo de floculante; o material desejável deve ser inexpansivo, atóxico e eficiente em dosagem restrita (MILLEDGE; HEAVEN, 2013; UMMALYMA *et al.*, 2017).

| Tecnologia             | Vantagens  | Desvantagens                                    | Referência   |
|------------------------|--|---|--|
| Floculantes metálicos  | Confiável;<br>Estabelecida                                       | Enriquecimento de biomassa;<br>Toxicidade       | Granados <i>et al.</i> (2012)                                      |
| Biopolímeros           | Limitadas dosagens de coagulante;<br>Produtos químico-biológicos | Onerosidade                                     | Vandamme <i>et al.</i> (2011)<br>Roselet, Burkert e Abreu (2016)   |
| Floculantes magnéticos | Excelente capacidade de separação por força magnética            | Onerosidade;<br>Efetivo sob escala laboratorial | Lim <i>et al.</i> (2012)<br>Prochazkova, Kastanek e Branyik (2015) |
| Eletrocoagulação       | Confiável;<br>Restrita exigência energética                      | Enriquecimento metálico de biomassa             | Vandamme <i>et al.</i> (2011)<br>Shuman <i>et al.</i> (2014)       |
| Biofloculação          | Sustentável;<br>Produtos biológicos                              | Necessidade de confirmação em escala            | González-Fernández e Ballesteros (2013)                            |

Tabela 20. Vantagens e desvantagens de tecnologias de floculação aplicadas à colheita de microalgas

Análise de ciclo de vida de sistema híbrido, caracterizado por bateria de fotobioreatores integrada ao sistema de lagoas superficiais amplas, realizada por Adesanya *et al.* (2014), revela: potencial de aquecimento global e exigência de energia fóssil de floculação são inferiores, em relação à centrifugação, prejudicada, justamente, pela necessidade de secagem de biomassa. Complementarmente, há estudos que comprovam: custos de centrifugação e floculação são equivalentes a 0,80 e 0,70 US\$ kg<sup>-1</sup> de biomassa, respectivamente. Registrem-se, portanto, vantagens de floculação ao cultivo de microalgas oleaginosas.

## Biofloculação

A biofloculação, análogo à floculação, caracteriza-se pela agregação de sólidos suspensos por intervenção de polímeros extracelulares, como polissacarídeos e proteínas, derivados de animais, vegetais e microrganismos, fúngicos e bacterianos. Diversidade e acessibilidade de bioprodutos, seletividade, aplicabilidade e biodegradabilidade são fatores que a promovem à colheita alternativa de biomassa de microalga (ALAM *et al.*, 2016; UMMALYMA *et al.*, 2017).

Proteínas extraídas de semente de *Moringa oleifera* e inulina catiônica são excelentes opções à biofloculação de *Chlorella sp.* e *Botryococcus sp.*, afirmam Abdul Hamid *et al.* (2014) e Rahul *et al.* (2015), que experimentaram biopolímeros à colheita de biomassa; os estudos constataram eficiências próximas a 90,0 %. A agregação de partículas coloidais por quitosana e goma-guar ocorre por interação de matriz extracelular de microalga e açúcares, principalmente, glicose, xilose, galactose, manose, celulose e pectina. Em relação à inulina, polissacarídeo de frutose, haveria conexão eletrostática (RAHUL *et al.*, 2015). Produtos vegetais são, comprovadamente, eficazes à biofloculação de microalgas, candidatando-se, portanto, à substituição de floculação química e, ou, centrifugação (Tabela 21).

| Produto                                  | Microalga                  | Eficiência (%) | Referências  |
|--|----------------------------|----------------|--|
| <b>Vegetal</b>                           |                            |                |  |
| <i>Moringa oleifera</i>                  | <i>Chlorella sp.</i>       | 90             | Abdul Hamid <i>et al.</i> (2014)                             |
| <i>Goma-guar</i>                         | <i>Chlamydomonas sp.</i>   | 84             | Banerjee <i>et al.</i> (2013)                                |
| <i>Goma-guar</i>                         | <i>Chlorella sp.</i>       | 92             | Banerjee <i>et al.</i> (2013)                                |
| <i>S. potatorum</i>                      | <i>Chlorella vulgaris</i>  | 99,7           | Abdul Razack <i>et al.</i> (2015)                            |
| Inulina                                  | <i>Botryococcus sp.</i>    | 88,6           | Rahul <i>et al.</i> (2015)                                   |
| <b>Bacteriano</b>                        |                            |                |  |
| <i>B. subtilis</i>                       | <i>B. braunii</i>          | 92             | (ZHENG <i>et al.</i> , 2012)                                 |
| <i>S. silvestris</i>                     | <i>N. oceanica</i>         | 90             | (ZHENG <i>et al.</i> , 2012)                                 |
| <i>E. coli</i>                           | <i>C. zofingiensis</i>     | 83             | Agbakpe <i>et al.</i> (2014)                                 |
| <i>B. licheniformis</i>                  | <i>Desmodesmus sp.</i>     | 92             | Ndikubwimana <i>et al.</i> (2015)                            |
| <b>Fúngico</b>                           |                            |                |  |
| <i>C. echinulata</i>                     | <i>C. vulgaris</i>         | 99             | Xie <i>et al.</i> (2013)                                     |
| <i>A. nomius</i>                         | <i>C. vulgaris</i>         | 97             | Talukder, Das e Wu (2014)                                    |
| <i>A. nomius</i>                         | <i>Nannochloropsis sp.</i> | 94             | Talukder, Das e Wu (2014)                                    |
| <i>A. fumigatus</i>                      | <i>T. suecica</i>          | 90             | Muradov <i>et al.</i> (2015)                                 |
| <i>S. bayanus</i>                        | <i>Chlamydomonas sp.</i>   | 95             | Díaz-Santos <i>et al.</i> (2015)                             |
| <i>S. bayanus</i>                        | <i>Picochlorum sp.</i>     | 75             | Díaz-Santos <i>et al.</i> (2015)                             |
| <i>I. fumosorosea</i>                    | <i>C. sorokiniana</i>      | 97             | Mackay <i>et al.</i> (2015)                                  |
| <i>A. fumigatus</i>                      | <i>C. protothecoides</i>   | 90             | Muradov <i>et al.</i> (2015)                                 |
| <i>S. pastorianus</i>                    | <i>C. vulgaris</i>         | 90             | Prochazkova, Kastanek e Branyik (2015)                       |
| <b>Floculação espontânea</b>             |                            |                |  |
| <i>E. texensis</i>                       | <i>C. vulgaris</i>         | 55             | Salim <i>et al.</i> (2011 e Salim, Vermuë e Wijffels (2012)  |
| <i>A. falcatus</i>                       | <i>C. vulgaris</i>         | 50             | Salim <i>et al.</i> (2011) e Salim, Vermuë e Wijffels (2012) |
| <i>T. suecica</i>                        | <i>N. oleoabundans</i>     | 72             | Salim <i>et al.</i> (2011) e Salim, Vermuë e Wijffels (2012) |
| <i>S. marinoi</i>                        | <i>N. oculata</i>          | 95             | Taylor, Rand e Caldwell (2012)                               |
| <i>S. obliquus</i>                       | <i>S. obliquus</i>         | 80             | Guo <i>et al.</i> (2013)                                     |
| <i>S. obliquus</i>                       | <i>C. vulgaris</i>         | 85             | Guo <i>et al.</i> (2013)                                     |
| <i>C. vulgaris</i>                       | <i>C. vulgaris CNW11</i>   | 80             | Alam <i>et al.</i> (2014)                                    |
| <b>Autofloculação por controle de pH</b> |                            |                |  |
| 10,2                                     | <i>C. calcitrans</i>       | 90             | Harith <i>et al.</i> (2009)                                  |
| 9  | <i>Nannochloropsis sp.</i> | 90             | Wu <i>et al.</i> (2012)                                      |
| 9  | <i>P. tricornutum</i>      | 90             | Wu <i>et al.</i> (2012)                                      |
| 4,5                                      | <i>C. nivale</i>           | > 90           | Liu <i>et al.</i> (2013)                                     |
| 12                                       | <i>Chlorococcum sp.</i>    | 94             | Ummalyima <i>et al.</i> (2017)                               |
| 5  | <i>C. vulgaris</i>         | 92,5           | Sharma <i>et al.</i> (2016)                                  |

Tabela 21. Estratégias de biofloculação aplicadas à colheita alternativa de microalgas

A quitosana, constituinte de exoesqueleto de crustáceos, produzido por desacetilação de quitina, é polímero catiônico atóxico e biodegradável. Sob acidez, caracteriza-se pela ocorrência de aminas eletropositivas que se adsorvem a superfícies eletronegativas; por isso, há possibilidade de aplicá-la à biofloculação. Embora detenha propriedades interessantes à ficologia, o biofloculante necessita de confirmação em larga escala (CARVER *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2011; LAL; DAS, 2016; LERTSUTTHIWONG; SUTTI; POWTONGSOOK, 2009).

Biofloculantes microbianos são categorizados em bacterianos e fúngicos. O ácido  $\gamma$ -glutâmico, aminoácido não essencial, secretado por bactérias, é, alternativamente, empregado à colheita de biomassa. Ótima relação custo/benefício, aplicabilidade e inocuidade ao metabolismo de microalga são vantagens comparativas, enquanto possibilidades de contaminação interespecífica e inabilitação de biomassa para propósitos alimentícios, limitações (RAWAT *et al.*, 2011; UMMALYMA *et al.*, 2017; ZHENG *et al.*, 2012). A aplicação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* ao co-cultivo das microalgas, *B. braunii* e *Desmodesmus sp.*, respectivamente, proporciona impressionantes 92,0 % de eficiência à colheita (NDIKUBWIMANA *et al.*, 2015; ZHENG *et al.*, 2012). Complementarmente, biofloculação de *Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.* e *Tetraselmis sp.*, explorando-se fungos do gênero *Aspergillus sp.*, expressa resultados, relativamente, parelhos: 90,0 a 99,0 % (MURADOV *et al.*, 2015; TALUKDER; DAS; WU, 2014; XIE *et al.*, 2013). Os agentes, *Aspergillus sp.* e *Phanerochaete sp.*, promovem agregação de células por filamentação esporo-coagulante, enquanto *Rhizopus sp.*, *Mucor sp.* e *Penicillium sp.*, o realizam por micélio, estrutura vegetativa que possui carga equivalente a 46,1 mV, neutralizante à eletronegatividade de superfície celular de microalga (GULTOM; HU, 2013; UMMALYMA *et al.*, 2017). Biofloculantes microbianos são econômicos. Há, inclusive, espécies oleaginosas, interessantes à terceira geração de biodiesel (ZHOU *et al.*, 2013).

Microalgas que floculam, espontaneamente, são denominadas auto-floculantes. A adição de *C. vulgaris*, *S. obliquus*, *A. falcatus* e *E. texensis* ao cultivo de espécies não-floculantes, otimiza colheita (ALAM *et al.*, 2014, 2016; GUO *et al.*, 2013; SALIM; VERMUË; WIJFFELS, 2012). A capacidade de adesão intercelular é influenciada por propriedades de microalga e fatores ambientais, principalmente, pH, nutrientes e oxigênio dissolvido (UDUMAN *et al.*, 2010). O controle de pH, introduzindo-se bases, normalmente, NaOH e KOH, induz microalgas à auto-floculação, devido a alterações em atratividade gravitacional (PÉREZ *et al.*, 2017; UMMALYMA *et al.*, 2017).  $\text{N-NO}_3^-$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$  complementam a lista de moduladores de auto-floculação. Os íons metálicos são, inclusive, estratégias de floculação química. Auto-floculação por manejo nutricional está relacionada à alcalinização de meio, devido ao consumo de nitratos e fosfatos (WU *et al.*, 2012).

Lal e Das (2016) avaliaram os métodos de colheita de biomassa: auto-floculação, floculação por cloreto de ferro e sulfato de alumínio-potássio, biofloculação por quitosana e eletro-floculação por descarga elétrica otimizada por cloreto de sódio. Os autores comprovaram que a faixa de pH, 8,0 a 12,5, controlada por NaOH e HCl, proporciona condições ideais à auto-floculação de *Chlorella sp.* e *Synechocystis sp.* Em meios alcalinos, os íons metálicos,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , co-precipitados em  $\text{Ca(OH)}_2$  e  $\text{Mg(OH)}_2$ , adsorvem-se à célula de microalga; a floculação ocorre, espontaneamente, à medida que a força de repulsão que mantém partículas sob livre deslocamento pelo campo elétrico é neutralizada.

Sob completa agregação, o potencial zeta de meio de cultivo é nulo (UDUMAN *et al.*, 2010; VANDAMME; FOUBERT; MUYLAERT, 2013). O controle de pH é, portanto, excelente estratégia à floculação espontânea.

## PRÉ-TRATAMENTO

A parede celular de microalga é composta por celulose, quitina, proteínas, sílica e carbonato de cálcio, substâncias estruturais que a enrijecem. O pré-tratamento seria, portanto, maneira de rompê-la, tornando-a, então, flexível à extração metodológica de lipídeos ou extravasamento automático de conteúdo citoplasmático. Moagem, homogeneização a alta pressão, cisalhamento sólido, propagação de ondas ultrassônicas, amplificação de luz por emissão estimulada de radiação ou *laser*, campo elétrico pulsativo e descarga de alta voltagem são métodos de pré-tratamento mecânicos, enquanto liofilização, ozonização, ciclo de congelamento-descongelamento, termólise por autoclavagem, irradiação de micro-ondas e liquefação, substâncias tensoativas, choque osmótico, e hidrólise enzimática, não-mecânicos. À seleção de método, orienta-se avaliar: espécie de microalga, custos de aquisição e manutenção, e longevidade de equipamento, eficiência técnica e probabilidade de prejuízos à qualidade energética de biodiesel (BROWN; DUAN; SAVAGE, 2010; CHATSUNGOEN; CHISTI, 2016; ELLISON; OVERA; BOLDOR, 2019; HALIM *et al.*, 2011; HEO *et al.*, 2017; KUMAR *et al.*, 2015; LEE *et al.*, 2013; LEE; OH; LEE, 2015; MCMILLAN *et al.*, 2013; MORADI-KHEIBARI; AHMADZADEH; HOSSEINI, 2017; PRABAKARAN; RAVINDRAN, 2011).

### Irradiação de Micro-ondas

A tecnologia de micro-ondas, caracterizada pela irradiação eletromagnética de padrões oscilatórios, promove rompimento de parede celular por desnaturação de componentes estruturais e impactos incisivos. Operacionalidade, independência de alta tecnologia e satisfatória eficiência (Figura 18) são vantagens que a projetam ao pré-tratamento de biomassa, previamente, à extração de lipídeos. Considerável consumo de energia elétrica e possibilidade de danos à síntese de lipídeos, carboidratos e proteínas são, todavia, desestimulantes à aplicação em escala comercial (GERKEN; DONOHOE; KNOSHAUG, 2013; GÜNERKEN *et al.*, 2015; HEO *et al.*, 2017; MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2015; SAFI *et al.*, 2014; SEYFABADI; RAMEZANPOUR; AMINI KHOEYI, 2011; URSU *et al.*, 2014).

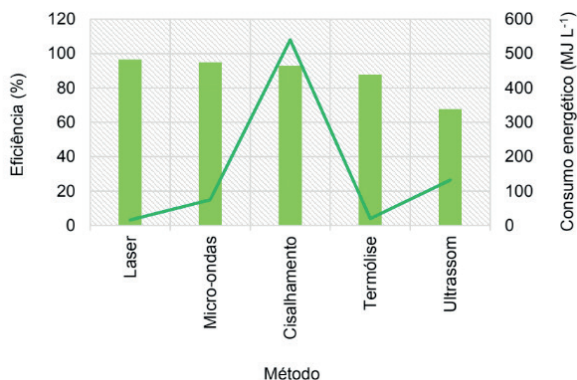


Figura 18. Eficiência de lise celular e consumo energético de métodos de pré-tratamento de biomassa de microalgas oleaginosas

HEO *et al.*, 2017.

Micro-ondas e autoclavagem são métodos de termotratamento que exigem menos processos, em relação ao choque osmótico por sais inorgânicos; por isso, são práticos. O primeiro é, adicionalmente, mais vantajoso que o segundo, pois atinge temperatura ótima ao rompimento celular em curto intervalo de tempo (HEO *et al.*, 2017).

Lohman *et al.* (2013) reportaram que o pré-tratamento de *C. vulgaris* por micro-ondas proporciona melhores condições à extração de lipídeos de biomassa úmida, intensificando-a, significativamente, comparado à propagação ultrassônica e indução térmica. Os autores obtiveram máximo rendimento técnico, irradiando-se células a 2500 MHz, 1000 W e 100 °C. A pesquisa científica de produção integrada de lipídeos e glicose de *C. vulgaris*, conduzida por Heo *et al.* (2017), confirma que irradiação de micro-ondas a 2,5 GHz, 800 W, por 15 minutos, é, relativamente, efetiva à desestruturação de parede celular. A tecnologia é, operacionalmente, simples e atrativa, comparada à termólise por autoclavagem, ultrassom e choque osmótico, método que requer reagentes específicos e complexo condicionamento de material, completam os autores. Os parâmetros de pré-tratamento por micro-ondas, frequência, voltagem, temperatura e tempo, são função de espécie de microalga, basicamente. Irradiação de micro-ondas associada à extração por solventes orgânicos, ou líquidos iônicos, é promessa à produção comercial de biodiesel de terceira geração, (SHARMA *et al.*, 2016; WAHIDIN; IDRIS; SHALEH, 2016).

## Ozonização

O ozônio é, quimicamente, estável. A reatividade do gás desintegra materiais por oxidação. Por isso, seria útil ao pré-tratamento alternativo de biomassa de microalga. A pesquisa científica de avaliação comparativa de ozonização e ultrasonicação para melhoria de extração de lipídeos de *C. vulgaris*, conduzida por Huang *et al.* (2014), comprova que a aplicação contínua do alótropo triatômico de oxigênio, isolada e assistida por pressão, provoca microfissuras à parede celular, tornando-a, mecanicamente, vulnerável ao extravasamento de conteúdo citoplasmático. A eficiência de ozonização convencional e otimizada estaria, provavelmente, associada a danos químicos e múltiplos ciclos de

pressão-descompressão, respectivamente, justificam os autores, que, inclusive, enaltecem o método pela possibilidade de intensificação de recuperação dos ácidos graxos saturados, palmítico e esteárico, hidrocarbonetos que contribuem, positivamente, ao desempenho operacional de motor, principalmente, em relação à cetanagem, estabilidade oxidativa e entupimento de filtros e injetores sob clima temperado.

## Ultrasonicação

Ultrasonicação é sinônimo de propagação de ondas sonoras pelo meio. O processo gera ciclos de alta pressão-temperatura que rompem, incisivamente, parede celular de microalga por cavitação, fenômeno decorrente de vaporização de líquido sob condição hipobárica. A tecnologia, além de reduzir o tempo de pré-tratamento convencional, absurdamente, melhora o rendimento técnico de extração solvente de lipídeos (CHOI *et al.*, 2014; GOUVEIA; OLIVEIRA, 2009; MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2015; SUALI; SARBATLY, 2012; TRAN *et al.*, 2012).

Ao pré-tratamento de *C. vulgaris*, Al-Lwayzy, Yusuf e Al-Juboori (2014) propagaram ondas ultrassônicas a 55 kHz e 21,5 W, enquanto Heo *et al.* (2017) o experimentaram a 40 kHz e 700 W. As pesquisas comprovaram eficiência da tecnologia, desqualificando-a, todavia, em relação ao substancial consumo de energia elétrica, influenciado, principalmente, por potência, temperatura e tempo operacionais. Há, oportunamente, pesquisas científicas que propõem e discutem soluções à viabilidade econômica de ultrasonicação, restringindo-se frequência, tempo e potência a condições de trabalho, minimamente, eficazes à ruptura celular (ARCHANAA *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2014; LEE *et al.*, 2010). Álvarez *et al.* (2016) constataram possibilidade de melhorar eficiência técnica de ultrasonicação, integrando-a à irradiação de micro-ondas. Os autores evidenciam que o método assistido duplica eficiência de extração de lipídeos, devido à simultaneidade de impactos sonoros e eletromagnéticos.

Embora, relativamente, vantajosos à produção de biodiesel de microalga de qualidade superior, reatores ultrassônicos convencionais, contínuos e estáticos, operam em frequência fixa e são propensos à incrustação e contaminação microbiana (GOLE; GOGATE, 2012; LEE *et al.*, 2014; SOMNUK; PRASIT; PRATEEPCHAIKUL, 2017). Considerando-se os inconvenientes técnico-econômicos expostos, Ellison, Overa e Boldor (2019) propuseram delineamento composto central e análise de superfície de resposta à otimização de pré-tratamento de co-cultivo de *C. vulgaris* e *Leptolyngbya sp.*, confinadas em fotobioreator tubular de aço inoxidável, com capacidade volumétrica de 230 L, por transdutores, dispositivos que transformam energia em ondas ultrassônicas de alto impacto. Segundo os autores, 20 kHz, 997 W e 32,5 minutos compuseram frequência, potência e tempo ótimos à extração solvente de lipídeos.

## Hidrólise Enzimática

A hidrólise enzimática ascende à biorrefinaria como alternativa sustentável aos métodos de pré-tratamento convencionais, onerosos e, eventualmente, prejudiciais à qualidade de óleo. Biocompatível ao sistema solvente, clorofórmio-metanol, a tecnologia é, incrivelmente, eficaz à lise celular; todavia, depende de espécie de microalga, atividade enzimática, temperatura, pH, tempo de reação *etc.* (CHO *et al.*, 2013).

Pesquisa científica confirma que o co-cultivo de *C. vulgaris* e *Flammeoyirga*

*yaeyamensis*, espécie bacteriana secretora de amilases, celulasas, glucosidades e xilanases, enzimas hidrolíticas capazes de fragilizar parede celular, otimiza eficiência de extração lipídica. Economia de custo de energia elétrica e independência de substâncias químicas promotoras de impactos socioambientais irreduzíveis são benefícios proporcionados pela hidrólise enzimática, enquanto sensibilidade enzimática a condições ambientais, desvantagem (CHEN; BAI; CHANG, 2013).

## EXTRAÇÃO

O rendimento de extração de lipídeos é fundamental à sustentabilidade de produção de biodiesel de microalga: sistemas solventes apolar-polar são, comprovadamente, capazes de garanti-lo em larga escala. Os principais métodos não-mecânicos são: Bligh e Dyer, Folch, Folch-Bligh e Dyer, solventes superiores e eutéticos, líquidos iônicos, fluidos supercríticos e destilação a vácuo (MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2015).

### Solventes Orgânicos

A popularidade de solventes orgânicos é justificada pelo limitado custo de aquisição, operacionalidade e precisão. Comparados à prensagem, método mecânico, proporcionam excelente extração de lipídeos neutros, devido à natureza de polaridade. Especificidade e possibilidade de contaminação são, entretanto, problemáticos à sustentabilidade da tecnologia (LAM; LEE, 2012).

Os solventes polares, n-hexano, benzeno, tolueno, éter e clorofórmio, e polares, metanol, acetona, acetato etílico, etanol e metanol, integrados, desvinculam lipídeos apolares e neutros conectados, hidrofobicamente; ruptura de interação é, fundamentalmente, influenciada por solubilidade lipídica (MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2015).

A integração de métodos físicos fundamentados em temperatura e, ou, pressão e solventes orgânicos otimiza extração de lipídeos (KUMAR et al., 2015). Ellison, Overa e Boldor (2019) comprovaram o pressuposto, ao extraírem lipídeos de suspensão de células de *C. vulgaris*, expostas ao pré-tratamento por transdução ultrassônica e colhidas por centrifugação, pelo sistema clorofórmio-metanol e n-hexano.

Fosfolipídios, ácidos graxos livres, esteróis, acilgliceróis e ésteres permitem transesterificação e esterificação, metanólica e etanólica. Todavia, somente, triacilgliceróis são úteis à produção comercial de biodiesel de terceira geração, pois proporcionam qualidade energética. Solventes orgânicos de amplo espectro extraem, simultaneamente, lipídeos polares, apolares e pigmentos, prejudicando, então, pureza de biocombustível. Por isso, a importância de seleção de solventes orgânicos à tecnologia de microalgas (ATADASHI; AROUA; AZIZ, 2010; MORADI-KHEIBARI; AHMADZADEH; HOSSEINI, 2017; SATHISH; SIMS, 2012).

#### *Bligh e Dyer*

O sistema, Bligh e Dyer, relaciona clorofórmio e metanol, proporcionando-os a 1: 2 v v<sup>-1</sup>. A composição é, absolutamente, eficaz à extração de lipídeos neutros e estruturais, desassociando-os de proteínas de membrana. A polaridade do componente alcoólico



possibilita satisfatória taxa de recuperação de ácidos graxos, comparado ao n-hexano, cuja principal vantagem relativa é o limitado potencial tóxico. Os ricos de contaminação ambiental por clorofórmio, biocomposto produzido por espécies vegetais aquáticas, são, inclusive, críticas sociais à produção de biodiesel de microalga (CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016; ELLISON; OVERA; BOLDOR, 2019)).

À extração de lipídeos de *Desmodemus sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Chlorella sp.* e *Chlorococcum sp.*, Kaur *et al.* (2012), autores da pesquisa científica de caracterização molecular e perfil de ácidos graxos de microalgas dulcícolas de *habitats* naturais indianos, adotaram Bligh e Dyer. Mohd-Sahib *et al.* (2017) o empregaram ao estudo de lipídeos para produção de biodiesel de *C. vulgaris*, cultivada, alternativamente, em fotobioreator de leite fluidizado revestido por material esponjoso de poliuretano. Informações auxiliares a respeito de metodologia de aplicação de Bligh e Dyer são compartilhadas por Álvarez *et al.* (2016), Cheirsilp, Thawechai e Prasertsan (2017) e Dianursanti, Sistiafi e Putri (2018).

O sistema, Bligh e Dyer, é versátil e permite alterações oportunas. Kumar *et al.* (2015) e Wong *et al.* (2017) o modificaram, adicionando-se NaCl, ácido fosfórico, HCl e ácido acético. Os autores obtiveram incremento em taxa de recuperação de lipídeos neutros.

### *Folch e Folch-Bligh e Dyer*

Aparentemente, similar ao Bligh e Dyer, Folch é caracterizado pela maior proporção de clorofórmio, em relação ao metanol: 2:1 v v<sup>-1</sup>. Rapidez e facilidade de processamento simultâneo de múltiplas amostras são as principais vantagens associadas ao sistema, enquanto imprecisão e restrição à extração em larga escala, devido ao potencial de risco de contaminação ambiental, representam limitações (KUMAR *et al.*, 2015).

Cho *et al.* (2013) propuseram hexano e hexano-metanol, alternativamente, a Folch, e comprovaram que o sistema tradicional é, relativamente, eficiente à extração de lipídeos. Al-Lwayzy, Yusaf e Al-Juboori, (2014), Mathimani *et al.* (2017) e Sharma *et al.* (2016), que, particularmente, avaliaram propriedades energéticas de biodiesel, desempenho operacional de motor e características de emissão de poluentes de cultivo de microalga, empregaram-no à extração de lipídeos de *C. vulgaris*. Embora as referências bibliográficas relacionem Folch a *Chlorella sp.*, o sistema é biocompatível a outras microalgas oleaginosas.

O sistema híbrido de extração solvente, Folch-Bligh e Dyer, surgiu em resposta às limitações relativas a Bligh e Dyer e Folch, isoladamente. A tecnologia extrai todas as classes de lipídeos, precisamente, e oferece restrito potencial de contaminação ambiental, devido à possibilidade de substituição de clorofórmio por solventes orgânicos superiores e eutéticos. Custos adicionais relativos à aquisição de materiais são, todavia, limitantes à sustentabilidade. A mistura Folch-Bligh e Dyer, metil-tert-butil éter, metanol e água, proporciona significativa recuperação de lipídeos neutros (KUMAR *et al.*, 2015).

### **Solventes Superiores**

Conforme sugere a classificação, solventes superiores oferecem múltiplos benefícios técnico-econômico-sociais à extração de lipídeos: 2-etoxietanol, metanol, isopropanol, butanol, ésteres de ácido acético e n-hexano são notáveis exemplos de limitado potencial

tóxico, particularmente, são ótimos extratores e substitutos imediatos ao clorofórmio, biocomposto carcinogênico que compromete a saúde humana por problemas orais agudos e irritação dermatológica (HUANG *et al.*, 2014; JONES *et al.*, 2012; MORADI-KHEIBARI; AHMADZADEH; HOSSEINI, 2017; SHENG; VANNELA; RITTMANN, 2011).

O estudo científico de extração de lipídeos de *C. vulgaris* e análise de perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa, realizado por Moradi-Kheibari, Ahmadzadeh e Hosseini (2017), enfatiza que, circunstancialmente, solventes superiores são ineficientes à extração de lipídeos, comparados a Bligh e Dyer e Folch (Figura 19).

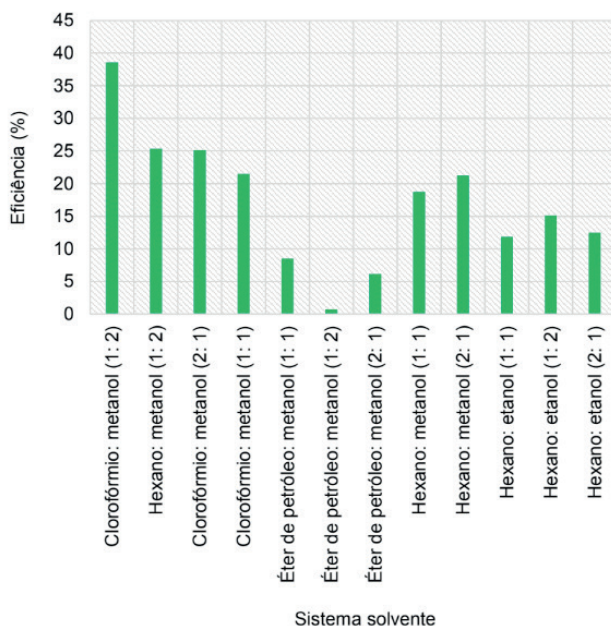


Figura 19. Eficiência de extração de lipídeos de solventes orgânicos MORADI-KHEIBARI; AHMADZADEH; HOSSEINI, 2017.

Os índices de polaridade de n-hexano e clorofórmio, considerados elevados, são, respectivamente: 0,1 e 4,1. Por isso, sistemas que o contemplam são excelentes extratores de lipídeos neutros, irrelevantemente, reativos a solventes polares (MORADI-KHEIBARI; AHMADZADEH; HOSSEINI, 2017). Espécie de microalga, teor de água de biomassa, tempo, afinidade de solventes orgânicos, solubilidade e classe de lipídeo são fatores adicionais que influenciam rendimento técnico de extração (KUMAR *et al.*, 2015).

## Solventes Eutéticos

Conceituados pela implacável higroscopicidade, durante a síntese de biodiesel por transesterificação *in situ* de biomassa integral úmida, solventes eutéticos são, comumente, compostos por sais orgânicos e doadores de ligações de hidrogênio, destacando-se:

amônia quaternária, cloridrato de colina, amins, álcoois, e os ácidos, carboxílico, acético e oxálico (DURAND; LECOMTE; VILLENEUVE, 2013; PAN *et al.*, 2017).

À transesterificação *in situ*, Pan *et al.* (2017) integrou cloridrato de colina aos ácidos, fórmico, acético, oxálico e propanoico, e obteve rendimentos de biodiesel, relativamente, pares: 8,89; 12,70; 10,35 e 10,53 %, respectivamente. Os autores atribuíram disparidade à afinidade de solventes e solubilidade de ésteres metílicos em ácido fórmico ou metanoico, oficialmente.

## Líquidos Iônicos e Fluidos Supercríticos

Os líquidos iônicos, cloridrato de 1-butil-3-metilimidazólio, sulfato metílico de 1-etil-3-metilimidazólio, sulfonato trifluorometano de 1-butil-3-metilimidazólio, 1-etil-3-metil acetato de imidazólio, 1-etil-3-metil dietilfosfato de imidazólio, 1-etil-3-metil tetrafluoroborato de imidazólio e 1-etil-3-metil cloreto de imidazólio, e fluidos supercríticos, etanol, H<sub>2</sub>O e CO<sub>2</sub>, produzidos sob temperaturas e pressões além da normalidade, são alternativas técnico-econômicas a solventes orgânicos, superiores e eutéticos. Limitado consumo energético, flexibilidade, estabilidade e inocuidade à sociedade e natureza são aspectos positivos que os promovem à extração de lipídeos em escala comercial (ARAUJO *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2013; WAHIDIN; IDRIS; SHALEH, 2016).

Os estudos científicos de extração de lipídeos de *Pavlova sp.* e *S. limacinum* por fluidos supercríticos e solventes, orgânicos, superiores e eutéticos, conduzidos por Cheng *et al.* (2011) e Tang *et al.* (2011), comprovam: CO<sub>2</sub> e etanol proporcionam produtividades de 34,0 e 33,9 %, enquanto n-hexano, impressionantes 48,0 e 45,0 %, respectivamente (Tabela 22).

| Método                     | Solvente                                    | Condições                           | Microalga                | Produtividade (%) | Referências                         |
|----------------------------|---|-------------------------------------|--------------------------|-------------------|-------------------------------------|
| Fluido supercrítico        | CO <sub>2</sub> e etanol<br>CO <sub>2</sub> | 40 °C,<br>35 MPa,<br>30 min         | <i>S. limacinum</i>      | 33,9              | Tang <i>et al.</i> (2011)           |
|                            |   |                                     | <i>Pavlova sp.</i>       | 34,0              | Cheng <i>et al.</i> (2011)          |
| Soxhlet                    | Hexano                                      | 40 °C,<br>0,1 MPa,<br>18 h          | <i>S. limacinum</i>      | 45,0              | Tang <i>et al.</i> (2011)           |
|                            | Diclorometano                               |                                     | <i>N. oculata</i>        | 9,0               | Liau <i>et al.</i> (2010)           |
|                            | Hexano                                      |                                     | <i>N. oculata</i>        | 5,79              | Liau <i>et al.</i> (2010)           |
|                            | Etanol                                      |                                     | <i>N. oculata</i>        | 40,90             | Cheng <i>et al.</i> (2011)          |
|                            | Hexano                                      |                                     | <i>Pavlova sp.</i>       | 45,2              | Converti <i>et al.</i> (2009)       |
|                            | Éter de petróleo                            |                                     | <i>N. oculata</i>        | 8,2               | Sheng, Vannela e Rittmann (2011)    |
| Solvente orgânico          | Etanol                                      | 200 °C,<br>0,1 MPa,<br>2 h          | <i>Synechocystis sp.</i> | 48,0              | Rittmann (2011)                     |
|                            | Hexano: etanol                              |                                     | <i>Synechocystis sp.</i> | 54,0              | Sheng, Vannela e Rittmann (2011)    |
|                            | Hexano: isopropanol                         |                                     | <i>Synechocystis sp.</i> | 36,0              |                                     |
|                            | Clorofórmio: metanol                        |                                     | <i>Synechocystis sp.</i> | 50,0              |                                     |
| Clorofórmio: metanol: água | <i>Synechocystis sp.</i>                    | 42,0                                |                          |                   |                                     |
| Fluido pressurizado        | Hexano                                      | 60 °C;<br>10 – 12<br>Mpa;<br>10 min | <i>N. oculata</i>        | 6,1               | Pieber, Schober e Mittelbach (2012) |
|                            | Hexano: propanol                            |                                     | <i>N. oculata</i>        | 20,0              |                                     |
|                            | Etanol                                      |                                     | <i>N. oculata</i>        | 36,0              |                                     |
| Solvente eutético          | Éter de petróleo                            | 40 KHz;<br>1 h                      | <i>N. oculata</i>        | 3,3               | Converti <i>et al.</i> (2009)       |
| Extração úmida             | Hexano                                      | 90 °C;<br>0,1 MPa                   | <i>Chlorella sp.</i>     | 59,3              | Sathish e Sims (2012)               |

|                |   |             |                    |                    |                           |
|----------------|---|-------------|--------------------|--------------------|---------------------------|
| Líquido iônico | 1-etil-3-metil dietilfosfato de imidazólio        |             |                    | 25,0               | Choi <i>et al.</i> (2014) |
|                | 1-etil-3-metil cloreto de imidazólio              | 120 °C;     | <i>C. vulgaris</i> | 23,5               |                           |
|                | 1-etil-3-metil acetato de imidazólio              | 2 h         |                    | 22,4               |                           |
|                | 1-etil-3-metil tetrafluoroborato de imidazólio    |             |                    | 22,0               |                           |
| Co-solvente    | 1-etil-3-metil acetato de imidazólio: clorofórmio | 120 °C; 2 h |                    | <i>C. vulgaris</i> | 27,5                      |

Tabela 22. Produtividade de métodos de extração de lipídeos de microalgas

Os líquidos iônicos, 1-etil-3-metil dietilfosfato de imidazólio, 1-etil-3-metil cloreto de imidazólio, 1-etil-3-metil acetato de imidazólio e 1-etil-3-metil tetrafluoroborato de imidazólio, aplicados à extração de lipídeos de *C. vulgaris*, resultam produtividades de 25,0; 23,5; 22,4 e 22,0 %, respectivamente (CHOI *et al.*, 2014). Os principais fatores que afetam desempenho de líquidos iônicos e fluidos supercríticos são: pressão, temperatura e tempo de operação (MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2015; WANG; WELLER, 2006). Há possibilidades de otimizá-los, associando-os a clorofórmio, metanol e n-hexano; sistemas co-solvente são, simultaneamente, eficazes e restritivos à volatilização de substâncias nocivas (CHOI *et al.*, 2014).

## Não-solventes e Processos Mecânicos

Pressão osmótica, solução isotônica e eco-extração-fracionamento são os principais métodos químico-mecânicos de extração de lipídeos independentes de solventes. Restrito consumo de energia elétrica, satisfatória eficiência técnica, operacionalidade, atoxidade e recuperação de lipídeos neutros ricos em ácidos graxos saturados constituem vantagens imediatas proporcionadas pelas tecnologias (ADAM *et al.*, 2012).

## Transesterificação Supercrítica *In Situ*

A transesterificação supercrítica *in situ*, caracterizada pela simultaneidade dos eventos, extração e síntese de biodiesel de biomassa integral úmida, é alternativa à etapa de secagem, onerosa e prejudicial à qualidade de lipídeos neutros. Apesar de promissora, devido à substancial produtividade, ótimo aproveitamento de catalisador e limitada geração de resíduos, a tecnologia é propensa à reversão de ésteres metílicos a metanol e triacilglicerol, e necessita de confirmação de operacionalidade em escala comercial (LEVINE; PINNARAT; SAVAGE, 2010; PARK *et al.*, 2017).

À produção de biodiesel de *Chlorella sp.* e *Nannochloris sp.*, Jazzar *et al.* (2015) reagiram triacilgliceróis e trifluoreto de boro-metanol supercrítico, à temperatura de 265 °C, por 50 minutos. Os autores constataram acréscimo em disponibilidade de  $\omega$ -3, valorizadíssimo pelas indústrias, alimentícia e farmacêutica, e decréscimo em percentual de ácidos graxos polinsaturados, prejudiciais à cetanagem e estabilidade oxidativa. Álvarez *et al.* (2016) e Park *et al.* (2017) reiteraram os benefícios do método à qualidade de biodiesel, criticando-o, entretanto, em relação ao considerável consumo de energia elétrica, devido à elevada temperatura requerida ao preparo e manutenção de líquido supercrítico e prolongado tempo de reação. Há, portanto, necessidade de ajustes técnicas.

# TRANSESTERIFICAÇÃO

## REAÇÃO

O biodiesel é, preferencialmente, sintetizado por transesterificação: 1 mol de triacilglicerol reage 3 três mols de álcool e produz 1 mol de glicerol e 3 mols de éster metílico; o processo, reversível, é catalisado por ácido, base ou enzima hidrolítica, homogênea ou heterogeneamente; espécie e concentração de catalisador são limitantes à produtividade e qualidade de biocombustível (Figura 20).

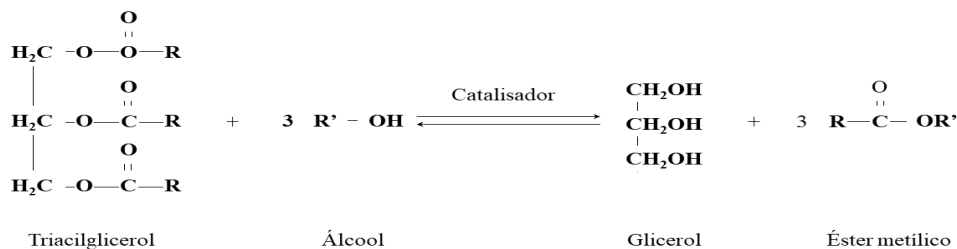


Figura 20. Reação de transesterificação de biodiesel de microalga

Fonte: Elaborado pelo autor.

Industrialmente, reagem-se 1 mol de triacilglicerol e 6 mols de metanol, prevenindo-se improdutividade por reversão de éster metílico em álcool e triglicerídeo. Apesar de questões de segurança, metanol é preferível à produção comercial de biodiesel, em relação ao etanol, devido ao baixo custo de aquisição e reatividade (DIANURSANTI; SISTIAFI; PUTRI, 2018; ELLISON; OVERA; BOLDOR, 2019; GUMBI *et al.*, 2017; PERALTA Y. Y.; KAFAROV V.; SANCHEZ E., 2010; YEN *et al.*, 2013).

## ROTAS CATALÍTICAS

### Catálise Alcalina

O biodiesel de microalga é, geralmente, produzido por transesterificação alcalina: NaOH ou KOH, bases populares, são indiferentes à corrosão de motor, problema associado a biocombustível catalisado por ácido. Elevado consumo energético, propensão à saponificação, frequente em presença de ácidos graxos livres, e insatisfatória transferência de calor por convecção, condução e, ou, radiação, internamente, ao reator, comprometem, entretanto, viabilidade técnico-econômica da rota. Considerando-se os inconvenientes, Patil *et al.* (2013) propuseram o processo de transesterificação assistida por irradiação de micro-ondas. A opção é confiável, produtiva, restritiva ao consumo de energia elétrica e tempo de reação (Tabela 23), eficaz à transferência de calor por polarização – dipolar e interfacial – e condução iônica, e garante melhores condições a reagentes e catalisadores (GUDE *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2015; SHARMA *et al.*, 2016).

| Variável operacional           | Método   |   |
|--------------------------------|--|---|
|                                | Reator de micro-ondas  | Reator convencional   |
| Tempo de reação (min)          | 15   | 180   |
| Produtividade de biodiesel (%) | 84,01  | 83,23   |
| Consumo energético (KWh)       | 0,641  | 0,684   |
| Vantagens                      | Tempos de reação e separação de produtos;<br>Eficiência energética | Operacionalidade;<br>Limitado emprego de recursos energéticos |

Tabela 23. Análise comparativa de métodos de transesterificação

SHARMA *et al.*, 2016

Sharma *et al.* (2016), responsáveis pela pesquisa científica de exploração de processos *upstream* e *downstream* para produção sustentável de biodiesel de *C. vulgaris* assistida por micro-ondas, obtiveram máxima produtividade, equivalente a 85,58 %, transesterificando-se 10 mols de triglicerídeos e 1 mol de metanol, catalisados por KOH a 1,5 %, à temperatura de 60 °C, por 20 minutos. Os autores ressaltaram: os parâmetros, qualidade de matéria-prima, relação molar triacilglicerol: álcool, espécie e concentração de catalisador, temperatura e tempo de reação, determinam rendimento técnico; o excesso de KOH o limita, drasticamente, devido à formação de emulsão que altera viscosidade e consistência de solução. Orienta-se, portanto: adequar condições operacionais à produtividade e qualidade de produto pretendidas (Tabela 24).

| Espécie   | Álcool  | Catalisador                    | Catálise    | Temp. (°C) | Tempo (min) | Referência                           |
|---|---------|--------------------------------|-------------|------------|-------------|--------------------------------------|
| <i>Scenedesmus sp.</i> ;<br><i>Hindakia tetrachotoma</i> ;<br><i>Micractinium sp.</i> | Metanol | KOH                            | Homogênea   | 60         | 180         | Onay <i>et al.</i> (2014)            |
| <i>C. vulgaris</i>  | Etanol  | NaOH                           | Homogênea   | 48         | 600         | Al-Lwayzy, Yusaf e Al-Juboori (2014) |
| <i>C. vulgaris</i>  | Metanol | NaOH                           | Homogênea   | 55         | 180         | Xaaldi Kalhor <i>et al.</i> (2016)   |
| <i>C. vulgaris</i>  | Metanol | NaOH                           | Homogênea   | 60         | -           | Peralta, Kafarov e Sanchez (2010)    |
| <i>N. oculata</i>   | Metanol | NaOH<br>Zeolita                | Heterogênea | 60         | 180         | Dianursanti, Sistiafi e Putri (2018) |
| <i>C. vulgaris</i>  | Metanol | KOH                            | Homogênea   | 60         | 20          | Sharma <i>et al.</i> (2016)          |
| <i>C. vulgaris</i>  | Metanol | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Homogênea   | 100        | 10          | Cho <i>et al.</i> (2013)             |
| <i>C. vulgaris</i><br><i>C. reinhardtii</i>   | Metanol | HCl                            | Homogênea   | 90         | 60          | Lohman <i>et al.</i> (2013)          |
| <i>C. vulgaris</i>  | Etanol  | HCl                            | Homogênea   | 85         | 210         | Scragg, Morrison e Shales (2003)     |

|  |         |                                |           |     |     |   |
|--|---------|--------------------------------|-----------|-----|-----|---|
| <i>C. vulgaris</i>   | Metanol | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Homogênea | 100 | 4   | Archanaa <i>et al.</i> (2019)                 |
| <i>Desmodemus sp.</i> ;<br><i>Scenedesmus sp.</i> ;<br><i>Chlorella sp.</i> ;<br><i>Chlorococcum sp.</i> | Metanol | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Homogênea | -   | 240 | Kaur <i>et al.</i> (2012)                     |
| <i>Leptolyngbya sp.</i>  | Metanol | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Homogênea | 60  | 180 | Lam e Lee (2012)                              |
| <i>C. vulgaris</i>   | Metanol | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Homogênea | 60  | 240 | Moradi-Kheibari, Ahmadzadeh e Hosseini (2017) |
| <i>C. vulgaris</i>   | Metanol | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Homogênea | 65  | 120 | Mathimani <i>et al.</i> (2017)                |

Tabela 24. Variáveis operacionais de síntese de biodiesel de microalgas por transesterificação

À transesterificação de biodiesel de *Nannochloropsis oculata*, promovida à temperatura de 60 °C, por 3 horas, Dianursanti, Sistiafi e Putri (2018) adotaram catálise heterogênea, caracterizada pela ocorrência de NaOH-zeolita em fase distinta a reagentes. Os autores enfatizaram que o sistema, além de apresentar ótima relação custo/benefício, facilitou separação de produtos e catalisadores por centrifugação. Registrem-se, portanto, pesquisas focadas em otimização de catálise alcalina.

### Catálise Ácida

A catálise ácida é, comumente, realizada por HCl e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Embora controlem saponificação, problema recorrente em rotas catalíticas alcalinas, os catalisadores em questão, se explorados, equivocadamente, proporcionam considerável grau de acidez ao biodiesel, tornando-o propenso à corrosão e, conseqüentemente, comprometimento de vida útil de motor. O ácido hipocloroso, produto de hipoclorito de sódio e cloreto de sódio eletrolisado, eficaz à remoção de clorofilas, pigmentos fotossintetizantes que conferem indesejável coloração ao biodiesel, desqualificando-o, é alternativa à melhoria de transesterificação (PARK *et al.*, 2014).

Circunstancialmente, é possível integrar esterificação ácida à transesterificação alcalina assistida por micro-ondas. O sistema híbrido é interessante à síntese de biodiesel de matéria-prima de qualidade inferior, concentrada em ácidos graxos livres. A primeira etapa do processo, catalisada por H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, eliminaria saponificação, enquanto a última, intermediada por KOH, converteria lipídeos neutros em éster metílico (SHARMA *et al.*, 2016).

# QUALIDADE DE BIODIESEL

## PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

A qualidade energética de biodiesel é, essencialmente, influenciada pelo perfil de ácidos graxos, distintos pelo comprimento e grau de insaturação de cadeia carbônica, propriedades físicas fundamentais à cetanagem, saponificação, viscosidade cinemática, densidade, ponto de fulgor ou inflamação *etc.* Os hidrocarbonetos de cadeia curta, caprílico, cáprico e láurico, e longa, mirístico, tetradecanóico, pentadecanóico, pentadeílico, palmítico, palmitoléico, hexadecadienóico, hexadecatrienóico, margárico, esteárico, oleico, elaídico, linoleico, araquídico, gadoléico, eicosadienóico, di-homo-gama-linoleico, araquidônico, ecosapentaenóico, behênio, docosa-hexaenóico e lignocérico, são, frequentemente, detectados em amostras de éster metílico extraídas de *Chlorella sp.*, *Micractinium sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Nannochloropsis sp.*, *Desmodesmus sp.*, *Ankistrodesmus sp.* e *Neochloris sp* (Tabela 25). O biodiesel de terceira geração concentra, principalmente, as cadeias carbônicas, C<sub>12</sub> e C<sub>18</sub>, saturadas e insaturadas (ARCHANAA *et al.*, 2019; DENG *et al.*, 2018; DIANURSANTI; SISTIAFI; PUTRI, 2018; MORADI-KHEIBARI; AHMADZADEH; HOSSEINI, 2017; ONAY *et al.*, 2014; PANDIT; FULEKAR; KARUNA, 2017; RAMESH KUMAR *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2014).

| Cadeia | Ácido graxos (%)            | <i>C. vulgaris</i> | <i>Nannochloropsis sp.</i> | <i>S. maxima</i> | <i>S. obliquus</i> | <i>Ankistrodesmus sp.</i> | <i>D. tertiolecta</i> | <i>N. oleoabundans</i> |
|--------|-----------------------------|--------------------|----------------------------|------------------|--------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------|
| 8:0    | Caprílico                   | -                  | -                          | -                | -                  | -                         | -                     | -                      |
| 10:0   | Cáprico                     | 0,09               | -                          | -                | -                  | -                         | -                     | -                      |
| 12:0   | Láurico                     | 0,73               | -                          | -                | -                  | -                         | -                     | -                      |
| 14:0   | Mirístico                   | 0,30 – 30,70       | 0,80 – 7,16                | 0,34             | 1,48               | 0,30                      | 0,47                  | 0,43                   |
| 14:1   | Tetradecanóico              | 0,60               | -                          | -                | -                  | -                         | -                     | -                      |
| 15:0   | Pentadeílico                | -                  | -                          | -                | -                  | 5,90                      | -                     | -                      |
| 16:0   | Palmítico                   | 2,04 – 37,01       | 23,35 – 42,46              | 40,16            | 21,78              | 1,10                      | 17,70                 | 19,35                  |
| 16:1   | Palmitoléico                | 0,40 – 24,31       | 0,04 – 26,87               | 9,19             | 5,95               | 23,50                     | 0,88                  | 1,85                   |
| 16:2   | Hexadecadienóico            | 0,60               | 0,39                       | -                | 3,96               | 3,80                      | 3,03                  | 1,74                   |
| 16:3   | Hexadecatrienóico           | 1,27 – 11,80       | 0,48                       | 0,42             | 0,68               | 14,60                     | 1,24                  | 0,96                   |
| 17:0   | Margárico                   | 1,40 – 4,20        | -                          | -                | -                  | 6,50                      | -                     | -                      |
| 18:0   | Esteárico                   | 0,63 – 3,70        | 0,45 – 3,72                | 1,18             | 0,45               | -                         | -                     | 0,98                   |
| 18:1   | Oleico                      | 5,90 – 36,8        | 13,20 – 30,75              | 5,43             | 17,93              | 0,90                      | 4,87                  | 20,29                  |
| 18:1   | Elaídico ( <i>trans</i> -9) | -                  | -                          | -                | -                  | -                         | -                     | -                      |
| 18:2   | Linoleico                   | 0,60 – 24,52       | 1,21 – 8,11                | 17,89            | 21,74              | 27,90                     | 12,37                 | 12,99                  |
| 18:3   | γ-linoleico                 | 2,60 – 45,80       | 13,39                      | 18,32            | 3,76               | 14,40                     | 30,19                 | 17,43                  |
| 20:0   | Araquídico                  | 0,30 – 7,54        | 0,70                       | 0,06             | -                  | 0,70                      | -                     | -                      |
| 20:1   | Gadoléico                   | 0,80 – 0,93        | -                          | -                | -                  | 24,40                     | -                     | -                      |
| 20:2   | Eicosadienóico              | 0,7                | -                          | 0,48             | -                  | -                         | -                     | -                      |



|             |                               |             |       |       |       |      |       |       |
|-------------|-------------------------------|-------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| 20:3        | Di-homo- $\gamma$ -linolênico | 0,83 – 1,50 | -     | -     | -     | -    | -     | -     |
| 20:4        | Araquidônico                  | 0,23 – 0,90 | 2,74  | -     | -     | -    | -     | -     |
| 20:5        | Ecosapentaenóico              | 0,46 – 1,30 | 14,31 | -     | -     | -    | -     | -     |
| 21:0        | -                             | 1,00        | -     | -     | -     | -    | -     | -     |
| 22:0        | Behênico                      | 0,25 – 1,30 | -     | -     | -     | 0,20 | -     | -     |
| 22:1        | Erúcico                       | 1,20 – 3,52 | -     | -     | -     | -    | -     | -     |
| 22:2        | Erúcico                       | 2,90        | -     | -     | -     | -    | -     | -     |
| 22:6        | Docosa-hexaenóico             | 13,80       | -     | -     | -     | -    | -     | -     |
| 23:0        | -                             | 0,70        | -     | -     | -     | -    | -     | -     |
| 24:0        | Lignocérico                   | 0,60 – 1,10 | -     | -     | -     | 0,20 | -     | -     |
| Saturados   |                               | 28,56       | 30,96 | 41,74 | 23,71 | -    | 18,17 | 20,76 |
| Insaturados |                               | 51,91       | 59,20 | 51,97 | 54,66 | -    | 63,14 | 64,60 |

Tabela 25. Perfil de ácidos graxos de microalgas aplicadas à terceira geração de biodiesel CHEIRSILP; THAWECHAI; PRASERTSAN, 2017; GOUVEIA; OLIVEIRA, 2009; MOHD-SAHIB *et al.*, 2017; PAN *et al.*, 2017; PANDIT; FULEKAR; KARUNA, 2017; SHARMA *et al.*, 2016

Os ácidos graxos, palmítico, esteárico e láurico, além de contribuírem à cetanagem, poder calorífico, estabilidade oxidativa e fluidez de biodiesel e bioquerosene de microalga, possibilitam fabricação de ração animal e suplementos dietéticos; aplicações complementares incluem: produção de cosméticos e biofármacos de combate ao *HIV* tipo I. O ácido linoleico, fundamental à prevenção de patologias cardiovasculares e arteriosclerose, deprecia qualidade de biodiesel, principalmente, em relação ao ponto de fusão, viscosidade e lubrificidade, enquanto docosa-hexaenóico, reconhecido pelo excepcional valor nutricional, oportuniza melhorias aos pontos de névoa e entupimento de filtro a frio, parâmetros importantíssimos ao desempenho operacional de motor sob clima temperado. O ácido margárico, principal componente de diesel mineral, particulariza-se pela independência à transesterificação (CALIXTO *et al.*, 2016; HEO *et al.*, 2017; KAUR *et al.*, 2012; LIN; LIN, 2011).

O perfil de *C. vulgaris*, particularmente, é repleto dos ácidos graxos: palmítico, esteárico, oleico e araquidônico. Os hidrocarbonetos saturados são, absolutamente, determinantes ao rendimento técnico de biodiesel, pois assumem cetanagem e poder de combustão superiores, comparados aos ácidos graxos, mirístico, palmitoléico, linoleico e  $\alpha$ -linoleico (Tabela 26). Ótimos tempo de resposta à ignição e desempenho operacional são características de motor alimentado com biodiesel de *Chlorella sp* (AL-LWAYZY; YUSAF; AL-JUBOORI, 2014; CHOI; JANG; KAN, 2018; DENG *et al.*, 2018; RAMESH KUMAR *et al.*, 2018; ZHU *et al.*, 2017).

| Ácido graxo  | Propriedade |                                 |  |                                  |
|--------------|-------------|---------------------------------|--|----------------------------------|
|              | Cetanagem   | Densidade (g cm <sup>-3</sup> ) | Viscosidade (mm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> ) | Combustão (MJ kg <sup>-1</sup> ) |
| Mirístico    | 66,20       | 0,87                            | 3,30   | 38,90                            |
| Palmítico    | 74,50       | 0,86                            | 4,38   | 39,45                            |
| Palmitoléico | 51,00       | 0,87                            | 3,67   | 39,30                            |
| Esteárico    | 86,90       | 0,87                            | 5,85   | 40,10                            |
| Linoleico    | 38,20       | 0,89                            | 3,65   | 39,70                            |
| α-linoleico  | 22,00       | 0,90                            | 3,14   | 39,34                            |

Tabela 26. Propriedades energéticas de ácidos graxos  
AL-LWAYZY; YUSAF; AL-JUBOORI, 2014

Ácidos graxos saturados possuem ponto de fusão superior, em relação a insaturados, que, apesar de predisporem biodiesel sob armazenamento, ou transporte a longa distância, à deterioração por foto-oxidação, temperatura, peróxidos e, ou, metais-traço, conversam melhores propriedades de fluxo a frio. Os índices de oxidação dos ácidos graxos, oleico, linoleico e linolênico, são, respectivamente: 1, 41 e 98. Biocombustíveis concentrados em ácido linolênico são inviáveis à comercialização em mercados internacionais, rigorosos, em relação à concentração de metil linolenato e posições, alílica e bis-alílica, equivalentes, indicadores de estabilidade oxidativa. Óleo de microalga rico em ácidos graxos insaturados, que cristalizam a baixíssimas temperaturas, é vantajoso à transesterificação de biodiesel utilizado em regiões temperadas, dispensando-o de aditivação. Os percentuais de saturação de ésteres metílicos de *Chlorella sp.*, *Chlorococcum macrostigmatum*, *Scenedesmus sp.*, *D. elegans* são, respectivamente: 54,90; 49,50; 46,30 a 56,40 e 46,40 %. A biorrefinaria preconiza matéria-prima com perfil de ácidos graxos equilibrado à qualidade plena de biodiesel (DIANURSANTI; SISTIAFI; PUTRI, 2018; HU et al., 2008; KAUR et al., 2012; MOHD-SAHIB et al., 2017).

A espécie, *C. vulgaris*, apresenta maiores disponibilidades dos ácidos graxos, láurico, mirístico, palmítico, palmitoléico e araquídico, comparada às culturas oleaginosas, palma, soja e pinhão-mansão e canola, competitivas, em relação aos hidrocarbonetos, esteárico, oleico, elaídico, linoleico e γ-linoleico (Tabela 27).

| Ácido graxo (%)  | Cultura           |                     |                     |                    |                                 |
|------------------|-------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------------------|
|                  | Soja <sup>1</sup> | Pinhão <sup>2</sup> | Canola <sup>3</sup> | Palma <sup>4</sup> | <i>C. vulgaris</i> <sup>4</sup> |
| Cáprico          | -                 | -                   | -                   | -                  | 0,15                            |
| Láurico          | -                 | -                   | -                   | 0,2                | 4,33                            |
| Mirístico        | -                 | 0,1                 | -                   | 0,7                | 3,15                            |
| Pentadeílico     | -                 | -                   | -                   | -                  | -                               |
| Palmítico        | 14,0              | 14,2                | 7,0                 | 43,0               | 49,73                           |
| Palmitoléico     | -                 | 0,7                 | 0,2                 | -                  | 2,56                            |
| Hexadecadienóico | -                 | -                   | -                   | -                  | -                               |

|                             |      |      |      |      |      |
|-----------------------------|------|------|------|------|------|
| Esteárico                   | 4,1  | 7,0  | 7,0  | 4,1  | 1,74 |
| Oleico                      | 23,3 | 44,7 | 61,0 | 42,4 | 25,8 |
| Elaídico ( <i>trans</i> -9) | -    | -    | -    | -    | -    |
| Linoleico                   | 52,5 | 32,8 | 20,0 | 9,5  | 5,05 |
| $\gamma$ -linoleico         | 5,6  | 0,2  | 10,0 | -    | 4,23 |
| Araquídico                  | -    | 0,2  | -    | -    | 0,75 |
| Gadoléico                   | -    | -    | 1,0  | -    | -    |

Tabela 27. Perfis de ácidos graxos de culturas oleaginosas aplicadas à produção de biodiesel

<sup>1</sup>CHOWDHURY *et al.* (2007); <sup>2</sup>AKBAR *et al.*, (2009); <sup>3</sup>BOCIANOWSKI; MIKOŁAJCZYK; BARTKOWIAK-BRODA (2012); <sup>4</sup>IDRIS *et al.* (2017).

As culturas soja, pinhão-manso, coqueiro, canola e palma, são realidades à transesterificação de biodiesel de primeira e segunda gerações. Ritmo de crescimento, limitada produtividade e questionável qualidade de óleo, ocupação de áreas férteis e aptidão à indústria alimentícia são, todavia, características que as qualificam como figurantes à produção bioenergética, em relação a microalgas, autossuficientes à síntese de biocombustível de qualidade superior (MATHIMANI *et al.*, 2017).

## PROPRIEDADES ENERGÉTICAS

As propriedades de biodiesel de microalga (Tabela 28) são determinadas, experimentalmente, ou estimadas pelo perfil de ácidos graxos: cetanagem, valores de iodo e saponificação, cetanagem, grau de insaturação, pontos de névoa e entupimento de filtro a frio, e fator saturado de cadeia longa se correlacionam, significativamente, com os hidrocarbonetos, palmítico, esteárico, araquídico, behênio e lignocérico (KRISNANGKURA, 1986; MORADI-KHEIBARI; AHMADZADEH; HOSSEINI, 2017; RAMOS *et al.*, 2009; SARIN *et al.*, 2009).

| Propriedade   | Combustível |              |               |               | Norma        |              |    |         |
|---|-------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|----|---------|
|   | Diesel      | Biodiesel 2G | Biodiesel 3G  | ASTMD 6751    | EN 14214     | IS 15607     | AS | ANP 255 |
| Densidade a 15 °C (g cm <sup>-3</sup> )                           | 0,838       | -            | 0,861 – 0,960 | 0,860 – 0,900 | 0,86 – 0,900 | 0,86 – 0,900 | -  | -       |
| Viscosidade cinemática a 40 °C (mm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> ) | 1,9 – 5,0   | 4,0 – 5,7    | 3,0 – 5,6     | 1,9 – 6,0     | 2,5 – 6,0    | 2,5 – 6,0    | -  | -       |
| Ponto de fulgor (°C)  | 75          | -            | 110 – 155     | 130           | 120          | -            | -  | -       |
| Valor ácido (mg KOH g <sup>-1</sup> )                             | ≤ 0,5       | -            | 0,352 – 0,51  | ≤ 0,8         | ≤ 0,5        | ≤ 0,5        | -  | -       |
| Teor de enxofre (mg kg <sup>-1</sup> )                            | 63,1        | -            | 1,6 – 1,9     | 50            | 50           | -            | -  | -       |

|  |         |             |               |             |             |        |      |      |
|--|---------|-------------|---------------|-------------|-------------|--------|------|------|
| Número de cetanos (min)                          | 55 – 60 | 44 – 55     | 47,0 – 57,0   | ≥ 47        | ≥ 51        | ≥ 51   | ≥ 51 | ≥ 45 |
| Grau de instauração (%)                          | -       | 0,6 – 1,6   | 0,69 – 1,35   | -           | -           | -      | -    | -    |
| Gravidade específica (g cm <sup>-3</sup> )       | -       | 0,87 – 0,89 | 0,88          | 0,85 – 0,90 | 0,86 – 0,90 | -      | -    | -    |
| Valor de iodo (g I <sub>2</sub> / 100 g óleo)    | -       | -           | 112,8 – 117,0 | -           | ≤ 120       | -      | -    | -    |
| Poder calorífico superior (MJ kg <sup>-1</sup> ) | -       | 38 - 41     | 38,0 – 42,7   | > 35        | -           | -      | -    | -    |
| Ponto de névoa (°C)                              | -       | -           | 2,03 – 8,01   | -           | -           | -      | -    | -    |
| Valor de saponificação (mg KOH g <sup>-1</sup> ) | -       | -           | 198,9 – 199,0 | -           | -           | -      | -    | -    |
| Ponto de entupimento de filtro a frio (°C)       | - 3,5   | -           | -8,95 – 6,00  | < - 3,5     | -           | -      | -    | -    |
| Fator saturado de cadeia longa (%)               | -       | -           | 2,39 – 7,00   | -           | -           | -      | -    | -    |
| Ponto de fluidez (°C)                            | -       | -           | -12,0 – 2,0   | -           | -           | -      | -    | -    |
| Posição alílica equivalente                      | -       | -           | 107           | -           | -           | -      | -    | -    |
| Posição bis-alílica equivalente                  | -       | -           | 67            | -           | -           | -      | -    | -    |
| Estabilidade oxidativa a 140 °C (h)              | -       | -           | 3 – 5         | -           | -           | -      | -    | -    |
| Glicerol total (%)                               | -       | -           | 0,08          | -           | -           | -      | -    | -    |
| Teor de cinzas (%)                               | 0,005   | -           | 0,019         | 0,02        | 0,02        | -      | -    | -    |
| Metil linolenato (%)                             | -       | -           | 7,54 – 10,08  | ≤ 12        | ≤ 12        | ≤ 12   | -    | -    |
| Corrosão de liga de cobre                        | -       | -           | 1             | ≤ 3         | ≤ 3         | ≤ 3    | -    | -    |
| Água e sedimento (%)                             | -       | -           | 0,03          | ≤ 0,05      | ≤ 0,05      | ≤ 0,05 | -    | -    |

Tabela 28. Propriedades energéticas de biodiesel de *C. vulgaris*

ARCHANAA *et al.*, 2019; DENG *et al.*, 2018; HEO *et al.*, 2017; MATHIMANI *et al.*, 2017; PANDIT; FULEKAR; KARUNA, 2017; RAMESH KUMAR *et al.*, 2018; SHARMA *et al.*, 2016

O número de cetanos, parâmetro adimensional interpretado como tempo de reação de motor à ignição, é importantíssimo à qualidade de biodiesel, principalmente, em regiões de clima temperado. Biocombustíveis com cetanagem superior a 60, classificados como *premium*, emitem limitados volumes de NO<sub>x</sub>, CO, CO<sub>2</sub> e particulados sulfurados, e, conseqüentemente, aliviam aquecimento global ocasionado por exaustão de gases de efeito estufa. Há relação direta entre os ácidos, mirístico, palmítico, palmitoléico e esteárico,

e cetanagem (ARCHANAA *et al.*, 2019; ARIAS-PEÑARANDA *et al.*, 2013; MOHD-SAHIB *et al.*, 2017; WANG; YANG; WANG, 2014).

O grau de insaturação, correlacionada ao valor de iodo, percentual de metil linolenato e posições, alílica e bis-alílica, equivalentes, é, inversamente, proporcional à estabilidade oxidativa de biodiesel, qualificando-o, ou não, ao armazenamento e transporte prolongados. A viscosidade cinemática é determinante à atomização, processo relacionado à admissão e combustão. Líquidos densos e viscosos desaceleram vaporização e causam depósito de carbono em componentes de motor, comprometendo-o à transferência térmica. A gravidade específica é propriedade-chave ao desempenho operacional de motor, pois determina flutuabilidade de biocombustível e funcionalidade de injetores (ARCHANAA *et al.*, 2019; DENG *et al.*, 2018; FRANCISCO *et al.*, 2010; HOEKMAN *et al.*, 2012; HU *et al.*, 2015; MATHIMANI *et al.*, 2017).

O ponto de névoa é sinônimo de cristalização: valores mínimos são desejáveis ao biodiesel comercializado em regiões temperadas. O ponto de entupimento de filtro a frio, correlacionado, inversamente, à viscosidade cinemática e fluidez, interpretado como indicativo de desempenho operacional a baixas temperaturas, reflete, dentre outras possibilidades, necessidade de aditivação. Biodiesel de elevado ponto de entupimento de filtro a frio é, razoavelmente, problemático em países tropicais, devido à propensão natural à obstrução de injetores e condutores de motor a temperaturas moderadas, tornando-o ineficiente em transformação de energia química em mecânica. O perfil de ácidos graxos de *Chlorella sp.* confere pontos de névoa e entupimento de filtro a frio adequados às especificações internacionais (HEO *et al.*, 2017; HOEKMAN *et al.*, 2012; MANDOTRA *et al.*, 2016; MATHIMANI *et al.*, 2017).

O valor ácido, associado à saponificação, refere-se à degradação de biodiesel e corrosão de componentes de motor, principalmente, suporte de válvulas, injetores e *cárter*, por ácidos graxos livres. Insustentável consumo de biocombustível e comprometimento de vida útil são, assertivamente, os principais prejuízos. Índice de corrosividade de cobre inferior a unidade significa segurança. A higroscopicidade de biodiesel intensifica reações oxidativas e influencia o ponto de fulgor, indicador de inflamabilidade; valores máximos são preconizados ao manuseio, armazenamento e transporte (HEO *et al.*, 2017; HOEKMAN *et al.*, 2012; MANDOTRA *et al.*, 2016).

Elevado consumo de combustível, consideráveis emissões de NO<sub>x</sub>, CO e CO<sub>2</sub>, e limitados torque e potência são características de motor propelido à diesel mineral. Pesquisas científicas comprovam que *blends* de diesel mineral e biodiesel de pinhão-manso, ou coco, solucionam os problemas (LIAQUAT *et al.*, 2013; MATHIMANI *et al.*, 2017; SAHOO *et al.*, 2009). Todavia, há controversas. O *blend* de diesel mineral e biodiesel de soja, particularmente, emite níveis significativos de NO<sub>x</sub> e CO<sub>2</sub>, comparado ao recurso fóssil, isoladamente (CANAKCI, 2007). Embora restrinja potencial poluente e proporcione eficiência líquida ao biodiesel de canola (Tabela 29), emulsão de microalga intensifica consumo de combustível e limita temperatura de exaustão, condicionante à propagação de gás e dissipação de energia (SCRAGG; MORRISON; SHALES, 2003).

| Parâmetro                                | Combustível |                     |         |
|--|-------------|---------------------|---------|
|  | Diesel      | Biodiesel de canola | Blend   |
| Consumo (L h <sup>-1</sup> )             | 0,78        | 1,01                | 1,06    |
| Poder calorífico (MJ kg <sup>-1</sup> )  | 43,30       | 37,60               | 38,00   |
| Consumo energético (MJ h <sup>-1</sup> ) | 0,03        | 0,04                | 0,03    |
| Temperatura exaustão (°C)                | 262,00      | 269,00              | 222,00  |
| Oxigênio (%)                             | 13,40       | 13,30               | 13,90   |
| Eficiência bruta (%)                     | 71,80       | 71,00               | 74,00   |
| Eficiência líquida (%)                   | 77,00       | 77,30               | 80,00   |
| Dióxido de carbono (%)                   | 5,70        | 5,70                | 5,30    |
| Monóxido de carbono (ppm)                | 915,00      | 1506,00             | 1904,00 |
| Óxido nitroso (ppm)                      | 316,00      | 332,00              | 239,00  |

Tabela 29. Desempenho operacional de motor alimentado por diesel mineral, biodiesel de canola e *blend*

SCRAGG; MORRISON; SHALES, 2003

O biodiesel de microalga contempla todas as especificações das normas internacionais, ASTM D 6751, EN 14214 e IS 15607, e nacional, ANP 255, qualificando-os, portanto, à comercialização em países norte-americanos e europeus, e Brasil (MATHIMANI *et al.*, 2017; SHARMA *et al.*, 2016). Oneroso custo unitário de produção de biomassa (Tabela 30) e balanço energético negativo desfavorecem, todavia, exploração em escala comercial (AMARO; GUEDES; MALCATA, 2011; ARCHANAA *et al.*, 2019).

| Parâmetro  | Atividade              |                    |                  |
|--|------------------------|--------------------|------------------|
|  | Indústria <sup>1</sup> | <i>C. vulgaris</i> | <i>R. opacus</i> |
| Volume de produção (m <sup>3</sup> )                                 | 7000                   | 7000               | 7000             |
| Área de cultivo (ha)   | 10                     | 10                 | 10               |
| Produtividade aérea de biomassa (g m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> ) | 20                     | 0,34               | 202              |
| Intervalo operacional (d)  | 300                    | 300                | 300              |
| Produção anual de biomassa (t)                                       | 600                    | 101                | 6048             |
| Custo total de produção de biomassa (€)                              | 6149682                | 6149682            | 6149682          |
| Custo por unidade de produção (€/kg <sup>-1</sup> )                  | 10                     | 61                 | 1                |

Tabela 30. Análise de custo de produção de biodiesel de *C. vulgaris*

ARCHANAA *et al.*, 2019

<sup>1</sup>Slade e Bauen (2013).

À consolidação da tecnologia, necessita-se, portanto, otimizar processos *downstream*, principalmente, em relação à bioprospecção de espécies oleaginosas, projeto de sistema de cultivo, colheita e extração de lipídeos, e *upstream*, refinando-se químicos finos e bioprodutos de valor agregado.

## CONSIDERAÇÕES

A tecnologia de microalgas promete revolucionar o cenário bioenergético, globalmente. Entretanto, o cultivo em larga escala é, economicamente, problemático, devido, principalmente, à onerosidade de custos de colheita, extração de lipídeos e manutenção de sistema de fotobioreatores, ou lagoas superficiais amplas; sensibilidade à contaminação microbiana e substanciais demandas de água-doce e fertilizantes minerais sintéticos são desafios complementares à sustentabilidade de biorrefinaria. Bioprospecção de espécies rústicas, rentáveis e facultativas à produção extracelular de lipídeos, reconfiguração de *design* de fotobioreator, métodos de colheita e solventes compatíveis ao processamento de biomassa integral úmida, águas residuais, biofertilizantes e gás de combustão são alternativas emergentes à terceira geração de biodiesel.

Os gêneros, *Scenedesmus sp.*, *Hindakia sp.* e *Micractinium sp.*, integrantes de comunidade planctônica de ecossistema geotérmico, são, naturalmente, capazes de sintetizar e estocar razoáveis quantidades de lipídeos neutros sob temperaturas extremas à multiplicação e residência de micróbios contaminantes. Especialistas os cogitam, inclusive, à produção de biodiesel em lagoas superficiais amplas, vulnerabilíssimas a variações ambientais. Os métodos, *Nile red*, *BODIPY*, cromatografia gasosa e espectrofotometria de massa, opcionais à triagem clássica por análise morfológica e sequenciamento molecular, falha e laboriosa, possibilitam identificação precisa de hiperacumuladores de triacilgliceróis, requeridíssimos à transesterificação de biodiesel de qualidade superior, com ótimos rendimento energético e estabilidade oxidativa. As tecnologias, fluorocromo, plasma e microencapsulamento de células em matrizes artificiais de hidrogel de alginato, eficazes ao controle de contaminação e reaproveitamento de material, imprimem ritmo, variabilidade genética, operacionalidade e credibilidade à bioprospecção, otimizando-a.

Floculação química e biofloculação são métodos de colheita alternativos à filtração e centrifugação, exigente em consumo de energia elétrica e prejudicial à qualidade de óleo de microalga; enquanto solventes eutéticos, líquidos iônicos, fluidos supercríticos, destilação a vácuo e transesterificação *in situ*, adventos tecnológicos aos extratores orgânicos, Bligh e Dyer, Folch e Folch-Bligh e Dyer, eficazes à recuperação de lipídeos neutros, porém criticados pelo potencial de contaminação ambiental e riscos à qualidade de vida social. O co-cultivo de microalgas, auto-floculantes e não-floculantes, proporciona operacionalidade e satisfatória eficiência à colheita; o rendimento do processo é, significativamente, intensificado por fotobioreator de leito fluidizado, projetado, alternativamente, ao cultivo vertical e colheita por remoção mecânica de biofilme microalgal fixado em material esponjoso biodegradável e inócuo. Os sais orgânicos e doadores de ligações de hidrogênio, amônia quaternária, cloridrato de colina, aminas, álcoois, e os ácidos, carboxílico, acético e oxálico, são, absurdamente, higroscópicos e, portanto, úteis à redução de custo de secagem de biomassa, processo antieconômico.

O balanço energético de produção de biodiesel de microalga é desfavorável. A integração de cultivo à indústria sucroenergética economizaria, portanto, combustão de petroquímicos, pois haveria possibilidade de redirecionamento de excedente de bioeletricidade à alimentação de sistema de cultivo; biofixação de dióxido de carbono emitido, localmente, e substituição de água-doce por vinhaça evitariam, complementarmente,

importação de fertilizantes minerais e CO<sub>2</sub> comercial, passivos onerosos e poluentes. O emprego de CO<sub>2</sub> comercial, considerando-se sequestro, liquefação, estocagem e transporte, representa, exatamente, 50,0 % do custo total de industrialização de biodiesel, tornando-o não competitivo, em relação ao diesel mineral. Sistemas de cultivo, tradicionais e integrados, planejados em nutrição celular, adotando-se efluente, resíduo sólido digerido, aeróbica ou anaerobicamente, gás de combustão e, ou, fonte de carbono orgânico alternativa, ao invés de água-doce, CO<sub>2</sub> comercial e, ou, glicose são progressos dignos de nota, pois, além de reduzirem demanda energética e custo unitário de produção de biomassa, contribuem à mitigação de aquecimento global e preservação de recursos naturais.

Biomassa residual de baixo teor lipídico e glicerol são comprometedores à escalabilidade de biorrefinaria de microalga; manejá-los, significaria, portanto, evitar impactos ambientais por descarte indevido de resíduos à natureza, valorizando-os a aplicações comerciais. Há possibilidade de síntese de metano, digerindo-se glicerol, anaerobicamente, desde que sais inorgânicos e ácidos graxos de cadeia longa não sejam restritivos à conversão de substrato em gás. A sacarificação enzimática de biomassa residual produz matérias-primas úteis à industrialização de bioetanol, biohidrogênio e *pellets*, biocombustíveis sólidos de estimado poder calorífico. Análise de ciclo de vida comprova: gerenciamento de coprodutos é questão-chave à sustentabilidade de produção em larga escala de biodiesel; por isso, deve ser realizado, criteriosamente, prevenindo-se geração de custos adicionais e problemas socioambientais irreversíveis.



# REFERÊNCIAS

- ABDUL HAMID, S. H.; LANANAN, F.; DIN, W. N. S.; LAM, S. S.; KHATOON, H.; ENDUT, A.; JUSOH, A. Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of Moringa oleifera seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Challenges in Environmental Science and Engineering, CESE-2013, p. 270–275, 2014.
- ABDUL RAZACK, S.; DURAIARASAN, S.; SANTHALIN SHELLOMITH, A. S.; MURALIKRISHNAN, K. Statistical optimization of harvesting *Chlorella vulgaris* using a novel bio-source, *Strychnos potatorum*. **Biotechnology Reports**, v. 7, p. 150–156, 2015.
- ABOU-SHANAB, R. A. I.; MATTER, I. A.; KIM, S.-N.; OH, Y.-K.; CHOI, J.; JEON, B.-H. Characterization and identification of lipid-producing microalgae species isolated from a freshwater lake. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 7, p. 3079–3085, 2011.
- ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ, J. M.; MAGÁN, J. J.; MOLINA, E. Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 6, Special issue on ACB 2011, p. 1344–1353, 2012.
- ADAM, F.; ABERT-VIAN, M.; PELTIER, G.; CHEMAT, F. “Solvent-free” ultrasound-assisted extraction of lipids from fresh microalgae cells: A green, clean and scalable process. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 457–465, 2012.
- ADESANYA, V. O.; CADENA, E.; SCOTT, S. A.; SMITH, A. G. Life cycle assessment on microalgal biodiesel production using a hybrid cultivation system. **Bioresource Technology**, v. 163, p. 343–355, 2014.
- AGBAKPE, M.; GE, S.; ZHANG, W.; ZHANG, X.; KOBYLARZ, P. Algae harvesting for biofuel production: Influences of UV irradiation and polyethylenimine (PEI) coating on bacterial bioagglutination. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 266–272, 2014.
- AKBAR, E.; YAAKOB, Z.; KAMARUDIN, S. K.; ISMAIL, M.; SALIMON, J. Characteristic and composition of *Jatropha curcas* oil seed from malaysia and its potential as biodiesel feedstock feedstock. **European Journal of Scientific Research**, v. 29, n. 3, p. 396–403, 2009.
- ALAM, Md. A.; VANDAMME, D.; CHUN, W.; ZHAO, X.; FOUBERT, I.; WANG, Z.; MUYLAERT, K.; YUAN, Z. Bioflocculation as an innovative harvesting strategy for microalgae. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 15, n. 4, p. 573–583, 2016.
- ALAM, Md. A.; WAN, C.; GUO, S.-L.; ZHAO, X.-Q.; HUANG, Z.-Y.; YANG, Y.-L.; CHANG, J.-S.; BAI, F.-W. Characterization of the flocculating agent from the spontaneously flocculating microalga *Chlorella vulgaris* JSC-7. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 118, n. 1, p. 29–33, 2014.
- AL-LWAYZY, S. H.; YUSAF, T.; AL-JUBOORI, R. A. Biofuels from the fresh water microalgae *Chlorella vulgaris* (FWM-CV) for diesel engines. **Energies**, v. 7, n. 3, p. 1829–1851, 2014.
- ALVAREZ, P.; SALGUEIRO, J. L.; PEREZ, L.; CANCELA, A.; SANCHEZ, A.; ORTIZ, L. Total use of microalgae as feedstock for biodiesel and pellet production. **International Journal of Environmental Research**, v. 10, n. 4, p. 637–644, 2016.
- AMARO, H. M.; GUEDES, A. C.; MALCATA, F. X. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3402–3410, 2011.
- ARAD, S.; LEVY-ONTMAN, O. Red microalgal cell-wall polysaccharides: biotechnological aspects. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 358–364, 2010.

- ARAUJO, G. S.; MATOS, L. J. B. L.; GONÇALVES, L. R. B.; FERNANDES, F. A. N.; FARIAS, W. R. L. Bioprospecting for oil producing microalgal strains: Evaluation of oil and biomass production for ten microalgal strains. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 8, p. 5248–5250, 2011.
- ARCHANAA, S.; JOSE, S.; MUKHERJEE, A.; SURAIISKUMAR, G. K. Sustainable diesel feedstock: A comparison of oleaginous bacterial and microalgal model systems. **BioEnergy Research**, v. 12, n. 1, p. 205–216, 2019.
- ARIAS-PEÑARANDA, M. T.; CRISTIANI-URBINA, E.; MONTES-HORCASITAS, C.; ESPARZA-GARCÍA, F.; TORZILLO, G.; CAÑIZARES-VILLANUEVA, R. O. Scenedesmus incrassatulus CLHE-Si01: A potential source of renewable lipid for high quality biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 140, p. 158–164, 2013.
- ATADASHI, I. M.; AROUA, M. K.; AZIZ, A. A. High quality biodiesel and its diesel engine application: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 7, p. 1999–2008, 2010.
- ATTA, M.; IDRIS, A.; BUKHARI, A.; WAHIDIN, S. Intensity of blue LED light: A potential stimulus for biomass and lipid content in fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 148, p. 373–378, 2013.
- BABA, Y.; TADA, C.; WATANABE, R.; FUKUDA, Y.; CHIDA, N.; NAKAI, Y. Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel manufacturing using a large-scale pilot plant: Methane production and application of digested sludge as fertilizer. **Bioresource Technology**, v. 140, p. 342–348, 2013.
- BABEL, S.; TAKIZAWA, S. Microfiltration membrane fouling and cake behavior during algal filtration. **Desalination**, v. 261, n. 1, p. 46–51, 2010.
- BAMGBOYE, A. I.; HANSEN, A. C. Prediction of cetane number of biodiesel fuel from the fatty acid methyl ester (FAME) composition. **International Agrophysics**, v. 22, n. 1, p. 21, 2008.
- BANERJEE, C.; GHOSH, S.; SEN, G.; MISHRA, S.; SHUKLA, P.; BANDOPADHYAY, R. Study of algal biomass harvesting using cationic guar gum from the natural plant source as flocculant. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 675–681, 2013.
- BENMOUSSA-DAHMEN, I.; CHTOUROU, H.; REZGUI, F.; SAYADI, S.; DHOUIB, A. Salinity stress increases lipid, secondary metabolites and enzyme activity in *Amphora subtropica* and *Dunaliella* sp. for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 816–825, 2016.
- BOCIANOWSKI, J.; MIKOŁAJCZYK, K.; BARTKOWIAK-BRODA, I. Determination of fatty acid composition in seed oil of rapeseed (*Brassica napus* L.) by mutated alleles of the FAD3 desaturase genes. **Journal of Applied Genetics**, v. 53, n. 1, p. 27–30, 2012.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557–577, 2010.
- BROWN, T. M.; DUAN, P.; SAVAGE, P. E. Hydrothermal Liquefaction and Gasification of *Nannochloropsis* sp. **Energy & Fuels**, v. 24, n. 6, p. 3639–3646, 2010.
- CALIXTO, C. D.; DA SILVA SANTANA, J. K.; DE LIRA, E. B.; SASSI, P. G. P.; ROSENHAIM, R.; DA COSTA SASSI, C. F.; DA CONCEIÇÃO, M. M.; SASSI, R. Biochemical compositions and fatty acid profiles in four species of microalgae cultivated on household sewage and agro-industrial residues. **Bioresource Technology**, v. 221, p. 438–446, 2016.

- CANAKCI, M. Combustion characteristics of a turbocharged DI compression ignition engine fueled with petroleum diesel fuels and biodiesel. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1167–1175, 2007.
- CAO, S.; ZHOU, X.; JIN, W.; WANG, F.; TU, R.; HAN, S.; CHEN, H.; CHEN, C.; XIE, G.-J.; MA, F. Improving of lipid productivity of the oleaginous microalgae *Chlorella pyrenoidosa* via atmospheric and room temperature plasma (ARTP). **Bioresource Technology**, v. 244, p. 1400–1406, 2017.
- CARVER, S. M.; HULATT, C. J.; THOMAS, D. N.; TUOVINEN, O. H. Thermophilic, anaerobic co-digestion of microalgal biomass and cellulose for H<sub>2</sub> production. **Biodegradation**, v. 22, n. 4, p. 805–814, 2011.
- CAVINATO, C.; GIULIANO, A.; BOLZONELLA, D.; PAVAN, P.; CECCHI, F. Bio-hythane production from food waste by dark fermentation coupled with anaerobic digestion process: A long-term pilot scale experience. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 15, p. 11549–11555, 2012.
- CHA, T. S.; CHEN, J. W.; GOH, E. G.; AZIZ, A.; LOH, S. H. Differential regulation of fatty acid biosynthesis in two *Chlorella* species in response to nitrate treatments and the potential of binary blending microalgae oils for biodiesel application. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 22, p. 10633–10640, 2011.
- CHACÓN-LEE, T. L.; GONZÁLEZ-MARIÑO, G. E. Microalgae for “healthy” foods—possibilities and challenges. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 6, p. 655–675, 2010.
- CHATSUNGNOEN, T.; CHISTI, Y. Oil production by six microalgae: impact of flocculants and drying on oil recovery from the biomass. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 5, p. 2697–2705, 2016.
- CHAUDHARY, L.; PRADHAN, P.; SONI, N.; SINGH, P.; TIWARI, A. Algae as a feedstock for bioethanol production: new entrance in biofuel world. **International Journal of ChemTech Research**, v. 6, n. 2, p. 1381–1389, 2014.
- CHEIRSILP, B.; THAWECHAI, T.; PRASERTSAN, P. Immobilized oleaginous microalgae for production of lipid and phytoremediation of secondary effluent from palm oil mill in fluidized bed photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 787–794, 2017.
- CHEIRSILP, B.; TORPEE, S. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 510–516, 2012.
- CHEN, C.-Y.; BAI, M.-D.; CHANG, J.-S. Improving microalgal oil collecting efficiency by pretreating the microalgal cell wall with destructive bacteria. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 170–176, 2013.
- CHEN, C.-Y.; YEH, K.-L.; AISYAH, R.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71–81, 2011.
- CHENG, C.-H.; DU, T.-B.; PI, H.-C.; JANG, S.-M.; LIN, Y.-H.; LEE, H.-T. Comparative study of lipid extraction from microalgae by organic solvent and supercritical CO<sub>2</sub>. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 21, p. 10151–10153, 2011.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 3, p. 294–306, 2007.
- CHO, H.-S.; OH, Y.-K.; PARK, S.-C.; LEE, J.-W.; PARK, J.-Y. Effects of enzymatic hydrolysis on lipid extraction from *Chlorella vulgaris*. **Renewable Energy**, v. 54, p. 156–160, 2013.

- CHOCHOIS, V.; DAUVILLÉE, D.; BEYLY, A.; TOLLETER, D.; CUINÉ, S.; TIMPANO, H.; BALL, S.; COURNAC, L.; PELTIER, G. Hydrogen production in chlamydomonas: Photosystem II-dependent and -independent pathways differ in their requirement for starch metabolism. **Plant Physiology**, v. 151, n. 2, p. 631–640, 2009.
- CHOI, S.-A.; OH, Y.-K.; JEONG, M.-J.; KIM, S. W.; LEE, J.-S.; PARK, J.-Y. Effects of ionic liquid mixtures on lipid extraction from *Chlorella vulgaris*. **Renewable Energy**, v. 65, p. 169–174, 2014.
- CHOI, Y.-K.; JANG, H. M.; KAN, E. Microalgal biomass and lipid production on dairy effluent using a novel microalga, *Chlorella* sp. isolated from dairy wastewater. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 23, n. 3, p. 333–340, 2018.
- CHOJNACKA, K.; MARQUEZ-ROCHA, F. J. Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. **Biotechnology**, v. 3, p. 21–34, 2004.
- CHOKSHI, K.; PANCH, I.; GHOSH, A.; MISHRA, S. Microalgal biomass generation by phycoremediation of dairy industry wastewater: An integrated approach towards sustainable biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 221, p. 455–460, 2016.
- CHOWDHURY, K.; BANU, L. A.; KHAN, S.; LATIF, A. Studies on the fatty acid composition of edible oil. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 42, n. 3, p. 311–316, 2007.
- COLLET, P.; HÉLIAS, A.; LARDON, L.; RAS, M.; GOY, R.-A.; STEYER, J.-P. Life-cycle assessment of microalgae culture coupled to biogas production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 207–214, 2011.
- CONVERTI, A.; CASAZZA, A. A.; ORTIZ, E. Y.; PEREGO, P.; DEL BORGHI, M. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 48, n. 6, p. 1146–1151, 2009.
- COOPER, M. S.; HARDIN, W. R.; PETERSEN, T. W.; CATTOLICO, R. A. Visualizing “green oil” in live algal cells. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 109, n. 2, p. 198–201, 2010.
- DAMIANI, M. C.; POPOVICH, C. A.; CONSTENLA, D.; LEONARDI, P. I. Lipid analysis in *Haematococcus pluvialis* to assess its potential use as a biodiesel feedstock. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 11, p. 3801–3807, 2010.
- DE BHOWMICK, G.; SUBRAMANIAN, G.; MISHRA, S.; SEN, R. Raceway pond cultivation of a marine microalga of Indian origin for biomass and lipid production: A case study. **Algal Research**, v. 6, p. 201–209, 2014.
- DENG, X.; GAO, K.; ADDY, M.; CHEN, P.; LI, D.; ZHANG, R.; LU, Q.; MA, Y.; CHENG, Y.; LIU, Y.; RUAN, R. Growing *Chlorella vulgaris* on mixed wastewaters for biodiesel feedstock production and nutrient removal. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 93, n. 9, p. 2748–2757, 2018.
- DENG, X.-Y.; GAO, K.; ZHANG, R.-C.; ADDY, M.; LU, Q.; REN, H.-Y.; CHEN, P.; LIU, Y.-H.; RUAN, R. Growing *Chlorella vulgaris* on thermophilic anaerobic digestion swine manure for nutrient removal and biomass production. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 417–425, 2017.
- DIANURSANTI; SISTIAFI, A. G.; PUTRI, D. N. Biodiesel synthesis from *nannochloropsis oculata* and *chlorella vulgaris* through transesterification process using NaOH/zeolite heterogeneous catalyst. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 105, p. 012053, 2018.

- DÍAZ-SANTOS, E.; VILA, M.; DE LA VEGA, M.; LEÓN, R.; VIGARA, J. Study of bioflocculation induced by *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* and flocculating protein factors in microalgae. **Algal Research**, v. 8, p. 23–29, 2015.
- DRIRA, N.; PIRAS, A.; ROSA, A.; PORCEDDA, S.; DHAOUADI, H. Microalgae from domestic wastewater facility's high rate algal pond: Lipids extraction, characterization and biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 206, p. 239–244, 2016.
- DURAND, E.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. Deep eutectic solvents: Synthesis, application, and focus on lipase-catalyzed reactions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 115, n. 4, p. 379–385, 2013.
- EL SHIMI, H. I.; MOUSTAFA, S. S. Biodiesel production from microalgae grown on domestic wastewater: Feasibility and Egyptian case study. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 4238–4244, 2018.
- ELLISON, C. R.; OVERA, S.; BOLDOR, D. Central composite design parameterization of microalgae/cyanobacteria co-culture pretreatment for enhanced lipid extraction using an external clamp-on ultrasonic transducer. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 51, p. 496–503, 2019.
- ELMEKAWY, A.; HEGAB, H. M.; VANBROEKHOVEN, K.; PANT, D. Techno-productive potential of photosynthetic microbial fuel cells through different configurations. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 617–627, 2014.
- ELUMALAI, S.; PRAKASAM, V.; SELVARAJAN, R. Optimization of abiotic conditions suitable for the production of biodiesel from *Chlorella vulgaris*. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 4, p. 91–97, 2011.
- ERIKSEN, N. T. The technology of microalgal culturing. **Biotechnology Letters**, v. 30, n. 9, p. 1525–1536, 2008.
- ESTÉVEZ-LANDEZÁBAL, L.-L.; BARAJAS-SOLANO, A.-F.; BARAJAS-FERREIRA, C.; KAFAROV, V. Improvement of lipid productivity on *Chlorella vulgaris* using waste glycerol and sodium acetate. **Ciencia, Tecnología y Futuro**, v. 5, n. 2, p. 113–126, 2013.
- FAN, J.; CUI, Y.; WAN, M.; WANG, W.; LI, Y. Lipid accumulation and biosynthesis genes response of the oleaginous *Chlorella pyrenoidosa* under three nutrition stressors. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, n. 1, p. 17, 2014.
- FAN, J.; HUANG, J.; LI, Y.; HAN, F.; WANG, J.; LI, X.; WANG, W.; LI, S. Sequential heterotrophy–dilution–photoinduction cultivation for efficient microalgal biomass and lipid production. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 206–211, 2012.
- FENG, D.; CHEN, Z.; XUE, S.; ZHANG, W. Increased lipid production of the marine oleaginous microalgae *Isochrysis zhangjiangensis* (*Chrysochyta*) by nitrogen supplement. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 12, p. 6710–6716, 2011.
- FRANCISCO, É. C.; NEVES, D. B.; JACOB-LOPES, E.; FRANCO, T. T. Microalgae as feedstock for biodiesel production: Carbon dioxide sequestration, lipid production and biofuel quality. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 85, n. 3, p. 395–403, 2010.
- FRANCO TRABUCCO; VIGGI, C. C.; PAGNANELLI, F.; TORO, L. Development of an integrated process for bio-oil production from microalgae. **Chemical Engineering Transactions**, v. 24, p. 1237–1242, 2011.

- FU, W.; GUDMUNDSSON, O.; FEIST, A. M.; HERJOLFSSON, G.; BRYNJOLFSSON, S.; PALSSON, B. Ø. Maximizing biomass productivity and cell density of *Chlorella vulgaris* by using light-emitting diode-based photobioreactor. **Journal of Biotechnology**, v. 161, p. 242–249, 2012.
- GE, S.; CHAMPAGNE, P.; PLAXTON, W. C.; LEITE, G. B.; MARAZZI, F. Microalgal cultivation with waste streams and metabolic constraints to triacylglycerides accumulation for biofuel production. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 11, n. 2, p. 325–343, 2017.
- GENTILI, F. G. Microalgal biomass and lipid production in mixed municipal, dairy, pulp and paper wastewater together with added flue gases. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 27–32, 2014.
- GERKEN, H. G.; DONOHOE, B.; KNOSHAUG, E. P. Enzymatic cell wall degradation of *Chlorella vulgaris* and other microalgae for biofuels production. **Planta**, v. 237, n. 1, p. 239–253, 2013.
- GHERNAOUT, D.; GHERNAOUT, B. On the concept of the future drinking water treatment plant: algae harvesting from the algal biomass for biodiesel production—A review. **Desalination and Water Treatment**, v. 49, n. 1–3, p. 1–18, 2012.
- GHIMIRE, A.; KUMAR, G.; SIVAGURUNATHAN, P.; SHOBANA, S.; SARATALE, G. D.; KIM, H. W.; LUONGO, V.; ESPOSITO, G.; MUNOZ, R. Bio-hythane production from microalgae biomass: Key challenges and potential opportunities for algal bio-refineries. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 525–536, 2017.
- GIRALDO CALDERÓN, N. D.; DÍAZ BAYONA, K. C.; ATEHORTÚA GARCÉS, L. Immobilization of the green microalga *Botryococcus braunii* in polyester wadding: Effect on biomass, fatty acids, and exopolysaccharide production. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 14, p. 80–87, 2018.
- GOLE, V. L.; GOGATE, P. R. A review on intensification of synthesis of biodiesel from sustainable feed stock using sonochemical reactors. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 53, p. 1–9, 2012.
- GONÇALVES, A. L.; PIRES, J. C. M.; SIMÕES, M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. **Algal Research, Wastewater and Algae; opportunities, challenges and long term sustainability**. v. 24, p. 403–415, 2017.
- GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; BALLESTEROS, M. Microalgae autoflocculation: an alternative to high-energy consuming harvesting methods. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 4, p. 991–999, 2013.
- GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A. C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 269–274, 2009.
- GOVENDER, T.; RAMANNA, L.; RAWAT, I.; BUX, F. BODIPY staining, an alternative to the Nile Red fluorescence method for the evaluation of intracellular lipids in microalgae. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 507–511, 2012.
- GRANADOS, M. R.; ACIÉN, F. G.; GÓMEZ, C.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA GRIMA, E. Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 102–110, 2012.
- GREENWELL H. C.; LAURENS L. M. L.; SHIELDS R. J.; LOVITT R. W.; FLYNN K. J. Placing microalgae on the biofuels priority list: A review of the technological challenges. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 7, n. 46, p. 703–726, 2010.
- GRIFFITHS, M. J.; HARRISON, S. T. L. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 5, p. 493–507, 2009.

GUDE, V. G.; PATIL, P.; MARTINEZ-GUERRA, E.; DENG, S.; NIRMALAKHANDAN, N. Microwave energy potential for biodiesel production. **Sustainable Chemical Processes**, v. 1, n. 1, p. 5, 2013.

GULTOM, S. O.; HU, B. Review of microalgae harvesting via co-pelletization with filamentous fungus. **Energies**, v. 6, n. 11, p. 5921–5939, 2013.

GUMBI, S. T.; MAJEKE, B. M.; OLANIRAN, A. O.; MUTANDA, T. Isolation, identification and high-throughput screening of neutral lipid producing indigenous microalgae from South African aquatic habitats. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 182, n. 1, p. 382–399, 2017.

GÜNERKEN, E.; D'HONDT, E.; EPPINK, M. H. M.; GARCIA-GONZALEZ, L.; ELST, K.; WIJFFELS, R. H. Cell disruption for microalgae biorefineries. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 2, p. 243–260, 2015.

GUO, S.-L.; ZHAO, X.-Q.; WAN, C.; HUANG, Z.-Y.; YANG, Y.-L.; ASRAFUL ALAM, Md.; HO, S.-H.; BAI, F.-W.; CHANG, J.-S. Characterization of flocculating agent from the self-flocculating microalga *Scenedesmus obliquus* AS-6-1 for efficient biomass harvest. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 285–289, 2013.

GUO, X.; YAO, L.; HUANG, Q. Aeration and mass transfer optimization in a rectangular airlift loop photobioreactor for the production of microalgae. **Bioresource Technology**, v. 190, p. 189–195, 2015.

GUPTA, P. L.; LEE, S.-M.; CHOI, H.-J. A mini review: photobioreactors for large scale algal cultivation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 9, p. 1409–1417, 2015.

HALIM, R.; GLADMAN, B.; DANQUAH, M. K.; WEBLEY, P. A. Oil extraction from microalgae for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 178–185, 2011.

HARITH, Z. T.; YUSOFF, F. M.; MOHAMED, M. S.; SHARIFF, M.; DIN, M.; ARIFF, A. B. Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, *Chaetoceros calcitrans*, cells. **African Journal of Biotechnology**, [s. l.], v. 8, n. 21, 2009. Disponível em: <<https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/66083>>. Acesso em: 20 abr. 2019.

HEIDARI, S. A.; FARHADIAN, O.; MAHBOOBI, S. N. Biomass Production and ammonia and nitrite removal from fish farm effluent by *Scenedesmus quadricauda* culture. **Journal of Environmental Studies**, v. 37, p. 7–9, 2011.

HEMPEL, N.; PETRICK, I.; BEHRENDT, F. Biomass productivity and productivity of fatty acids and amino acids of microalgae strains as key characteristics of suitability for biodiesel production. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 24, n. 6, p. 1407–1418, 2012.

HENA, S.; FATIHAH, N.; TABASSUM, S.; ISMAIL, N. Three stage cultivation process of facultative strain of *Chlorella sorokiniana* for treating dairy farm effluent and lipid enhancement. **Water Research**, [s. l.], v. 80, p. 346–356, 2015.

HEO, Y. M.; LEE, H.; LEE, C.; KANG, J.; AHN, J.-W.; LEE, Y. M.; KANG, K.-Y.; CHOI, Y.-E.; KIM, J.-J. An integrative process for obtaining lipids and glucose from *Chlorella vulgaris* biomass with a single treatment of cell disruption. **Algal Research**, v. 27, p. 286–294, 2017.

HEREDIA-ARROYO, T.; WEI, W.; RUAN, R.; HU, B. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* and its potential application for the oil accumulation from non-sugar materials. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 5, p. 2245–2253, 2011.

HOEKMAN, S. K.; BROCH, A.; ROBBINS, C.; CENICEROS, E.; NATARAJAN, M. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 1, p. 143–169, 2012.

- HÖFFNER, K.; BARTON, P. I. Design of Microbial Consortia for Industrial Biotechnology. In: EDEN, M. R.; SIROLA, J. D.; TOWLER, G. P. (Eds.). **Computer Aided Chemical Engineering**. Proceedings of the 8 International Conference on Foundations of Computer-Aided Process Design: Elsevier, 2014. v. 34p. 65–74.
- HONG, J. W.; KIM, O. H.; JO, S. W.; KIM, H.; JEONG, M. R.; PARK, K. M.; YOON, H. S. Biochemical composition of a Korean domestic microalga *Chlorella vulgaris* KNUA027. **Korean Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 44, p. 400–407, 2016.
- HOU, Y. M.; DONG, X. Y.; YU, H.; LI, S.; REN, C. S.; ZHANG, D. J.; XIU, Z. L. Disintegration of biomacromolecules by dielectric barrier discharge plasma in helium at atmospheric pressure. **IEEE Transactions on Plasma Science**, v. 36, n. 4, p. 1633–1637, 2008.
- HOUNSLOW, E.; NOIREL, J.; GILMOUR, D. J.; WRIGHT, P. C. Lipid quantification techniques for screening oleaginous species of microalgae for biofuel production. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, n. 2, p. 1500469, 2017.
- HU, B.; ZHOU, W.; MIN, M.; DU, Z.; CHEN, P.; MA, X.; LIU, Y.; LEI, H.; SHI, J.; RUAN, R. Development of an effective acidogenically digested swine manure-based algal system for improved wastewater treatment and biofuel and feed production. **Applied Energy**, v. 107, p. 255–263, 2013.
- HU, Q.; SOMMERFELD, M.; JARVIS, E.; GHIRARDI, M.; POSEWITZ, M.; SEIBERT, M.; DARZINS, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 621–639, 2008.
- HU, Q.; XIANG, W.; DAI, S.; LI, T.; YANG, F.; JIA, Q.; WANG, G.; WU, H. The influence of cultivation period on growth and biodiesel properties of microalga *Nannochloropsis gaditana* 1049. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 157–164, 2015.
- HU, Q.; ZENG, R.; ZHANG, S. X.; YANG, Z. H.; HUANG, H. Production of microalgal lipids as biodiesel feedstock with fixation of CO<sub>2</sub> by *Chlorella vulgaris*. **Food Technology and Biotechnology**, v. 52, p. 285–291, 2014.
- HUANG, Y.; HONG, A.; ZHANG, D.; LI, L. Comparison of cell rupturing by ozonation and ultrasonication for algal lipid extraction from *Chlorella vulgaris*. **Environmental Technology**, v. 35, n. 8, p. 931–937, 2014.
- ILLMAN, A. M.; SCRAGG, A. H.; SHALES, S. W. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 27, n. 8, p. 631–635, 2000.
- JAYANTA, T.; CHANDRA, K. M.; CHANDRA, G. B. Growth, total lipid content and fatty acid profile of a native strain of the freshwater oleaginous microalgae *Ankistrodesmus falcatus* (Ralf) grown under salt stress condition. **International Research Journal of Biological Sciences**, v. 1, p. 10, 2012.
- JAZZAR, S.; QUESADA-MEDINA, J.; OLIVARES-CARRILLO, P.; MARZOUKI, M. N.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA-GRIMA, E.; SMAALI, I. A whole biodiesel conversion process combining isolation, cultivation and in situ supercritical methanol transesterification of native microalgae. **Bioresource Technology**, v. 190, p. 281–288, 2015.
- JEBALI, A.; ACIÉN, F. G.; GÓMEZ, C.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MHIRI, N.; KARRAY, F.; DHOUB, A.; MOLINA-GRIMA, E.; SAYADI, S. Selection of native Tunisian microalgae for simultaneous wastewater treatment and biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 424–430, 2015.
- JEON, H.-S.; PARK, S. E.; AHN, B.; KIM, Y.-K. Enhancement of biodiesel production in *Chlorella vulgaris* cultivation using silica nanoparticles. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 22, n. 2, p. 136–141, 2017.



- JI, M.-K.; KIM, H.-C.; SAPIREDDY, V. R.; YUN, H.-S.; ABOU-SHANAB, R. A. I.; CHOI, J.; LEE, W.; TIMMES, T. C.; INAMUDDIN; JEON, B.-H. Simultaneous nutrient removal and lipid production from pretreated piggy wastewater by *Chlorella vulgaris* YSW-04. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 6, p. 2701–2710, 2013.
- JOHN, R. P.; ANISHA, G. S.; NAMPOOTHIRI, K. M.; PANDEY, A. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 186–193, 2011.
- JONES, J.; MANNING, S.; MONTOYA, M.; KELLER, K.; POENIE, M. Extraction of algal lipids and their analysis by HPLC and mass spectrometry. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 2012. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1007/s11746-012-2044-8>. Acesso em: 21 abr. 2019.
- KANDILIAN, R.; PRUVOST, J.; LEGRAND, J.; PILON, L. Influence of light absorption rate by *Nannochloropsis oculata* on triglyceride production during nitrogen starvation. **Bioresource Technology**, v. 163, p. 308–319, 2014.
- KAUR, S.; SARKAR, M.; SRIVASTAVA, R. B.; GOGOI, H. K.; KALITA, M. C. Fatty acid profiling and molecular characterization of some freshwater microalgae from India with potential for biodiesel production. **New Biotechnology**, v. 29, n. 3, p. 332–344, 2012.
- KHUDHAIR, A. M.; FARID, M. M. A review on energy conservation in building applications with thermal storage by latent heat using phase change materials. **Energy Conversion and Management**, v. 45, n. 2, p. 263–275, 2004.
- KIM, G.-Y.; YUN, Y.-M.; SHIN, H.-S.; HAN, J.-I. Cultivation of four microalgae species in the effluent of anaerobic digester for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 738–742, 2017.
- KIM, S.; KIM, H.; KO, D.; YAMAOKA, Y.; OTSURU, M.; KAWAI-YAMADA, M.; ISHIKAWA, T.; OH, H.-M.; NISHIDA, I.; LI-BEISSON, Y.; LEE, Y. Rapid induction of lipid droplets in *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella vulgaris* by brefeldin A. **PLoS One**, v. 8, n. 12, p. e81978, 2013.
- KLIGERMAN, D. C.; BOUWER, E. J. Prospects for biodiesel production from algae-based wastewater treatment in Brazil: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 1834–1846, 2015.
- KOTHARI, R.; PRASAD, R.; KUMAR, V.; SINGH, D. P. Production of biodiesel from microalgae *Chlamydomonas polypyrenoideum* grown on dairy industry wastewater. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 499–503, 2013.
- KRISNANGKURA, K. A simple method for estimation of cetane index of vegetable oil methyl esters. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, n. 4, p. 552–553, 1986.
- KUMAR, K.; MISHRA, S. K.; SHRIVASTAV, A.; PARK, M. S.; YANG, J.-W. Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 51, p. 875–885, 2015.
- LAL, A.; DAS, D. Biomass production and identification of suitable harvesting technique for *Chlorella* sp. MJ 11/11 and *Synechocystis* PCC 6803. **3 Biotech**, v. 6, n. 1, p. 41, 2016.
- LAM, M. K.; LEE, K. T. Potential of using organic fertilizer to cultivate *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. **Applied Energy**, v. 94, p. 303–308, 2012.
- LEE, D.-H.; BAE, C. Y.; HAN, J.-I.; PARK, J.-K. In situ analysis of heterogeneity in the lipid content of single green microalgae in alginate hydrogel microcapsules. **Analytical Chemistry**, v. 85, n. 18, p. 8749–8756, 2013.

LEE, J.-Y.; YOO, C.; JUN, S.-Y.; AHN, C.-Y.; OH, H.-M. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. S75–S77, 2010.

LEE, K.; CHANTRASAKDAKUL, P.; KIM, D.; KONG, M.; PARK, K. Y. Ultrasound pretreatment of filamentous algal biomass for enhanced biogas production. **Waste Management**, v. 34, n. 6, Waste Management on Asia, p. 1035–1040, 2014.

LEE, O. K.; OH, Y.-K.; LEE, E. Y. Bioethanol production from carbohydrate-enriched residual biomass obtained after lipid extraction of *Chlorella* sp. KR-1. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 22–27, 2015.

LERTSUTTHIWONG, P.; SUTTI, S.; POWTONGSOOK, S. Optimization of chitosan flocculation for phytoplankton removal in shrimp culture ponds. **Aquacultural Engineering**, v. 41, n. 3, p. 188–193, 2009.

LEVINE, R. B.; PINNARAT, T.; SAVAGE, P. E. Biodiesel production from wet algal biomass through in situ lipid hydrolysis and supercritical transesterification. **Energy & Fuels**, v. 24, n. 9, p. 5235–5243, 2010.

LIANG, Y.; SARKANY, N.; CUI, Y. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. **Biotechnology Letters**, v. 31, n. 7, p. 1043–1049, 2009.

LIAQUAT, A. M.; MASJUKI, H. H.; KALAM, M. A.; FATTAH, I. M. R.; HAZRAT, M. A.; VARMAN, M.; MOFIJUR, M.; SHAHABUDDIN, M. Effect of coconut biodiesel blended fuels on engine performance and emission characteristics. **Procedia Engineering**, v. 56, p. 583–590, 2013.

LIAU, B.-C.; SHEN, C.-T.; LIANG, F.-P.; HONG, S.-E.; HSU, S.-L.; JONG, T.-T.; CHANG, C.-M. J. Supercritical fluids extraction and anti-solvent purification of carotenoids from microalgae and associated bioactivity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 169–175, 2010.

LIM, J. K.; CHIEH, D. C. J.; JALAK, S. A.; TOH, P. Y.; YASIN, N. H. M.; NG, B. W.; AHMAD, A. L. rapid magnetophoretic separation of microalgae. **Small**, v. 8, n. 11, p. 1683–1692, 2012.

LIN, Q.; LIN, J. Effects of nitrogen source and concentration on biomass and oil production of a *Scenedesmus rubescens* like microalga. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 102, n. 2, p. 1615–1621, 2011.

LIU, J.; ZHU, Y.; TAO, Y.; ZHANG, Y.; LI, A.; LI, T.; SANG, M.; ZHANG, C. Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease. **Biotechnology for Biofuels**, v. 6, n. 1, p. 98, 2013.

LIU, Z.-Y.; WANG, G.-C.; ZHOU, B.-C. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4717–4722, 2008.

LOHMAN, E. J.; GARDNER, R. D.; HALVERSON, L.; MACUR, R. E.; PEYTON, B. M.; GERLACH, R. An efficient and scalable extraction and quantification method for algal derived biofuel. **Journal of Microbiological Methods**, v. 94, n. 3, p. 235–244, 2013.

LUO, L.; HE, H.; YANG, C.; WEN, S.; ZENG, G.; WU, M.; ZHOU, Z.; LOU, W. Nutrient removal and lipid production by *Coelastrella* sp. in anaerobically and aerobically treated swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 135–141, 2016.

MA, G.; HU, W.; PEI, H.; JIANG, L.; JI, Y.; MU, R. Study of KOH/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> as heterogeneous catalyst for biodiesel production via in situ transesterification from microalgae. **Environmental Technology**, v. 36, n. 5, p. 622–627, 2015.

- MA, X.; ZHENG, H.; ADDY, M.; ANDERSON, E.; LIU, Y.; CHEN, P.; RUAN, R. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in wastewater with waste glycerol: Strategies for improving nutrients removal and enhancing lipid production. **Bioresource Technology**, v. 207, p. 252–261, 2016.
- MACKAY, S.; GOMES, E.; HOLLIGER, C.; BAUER, R.; SCHWITZGUÉBEL, J.-P. Harvesting of *Chlorella sorokiniana* by co-culture with the filamentous fungus *Isaria fumosorosea*: A potential sustainable feedstock for hydrothermal gasification. **Bioresource Technology**, v. 185, p. 353–361, 2015.
- MALCATA, F. X. Microalgae and biofuels: A promising partnership? **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 11, p. 542–549, 2011.
- MANDAL, S.; MALLICK, N. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, n. 2, p. 281–291, 2009.
- MANDIK, Y. I.; CHEIRSILP, B.; BOONSAWANG, P.; PRASERTSAN, P. Optimization of flocculation efficiency of lipid-rich marine *Chlorella* sp. biomass and evaluation of its composition in different cultivation modes. **Bioresource Technology**, v. 182, p. 89–97, 2015.
- MANDOTRA, S. K.; KUMAR, P.; SUSEELA, M. R.; NAYAKA, S.; RAMTEKE, P. W. Evaluation of fatty acid profile and biodiesel properties of microalga *Scenedesmus abundans* under the influence of phosphorus, pH and light intensities. **Bioresource Technology**, v. 201, p. 222–229, 2016.
- MARANDUBA, H. L.; ROBRA, S.; NASCIMENTO, I. A.; DA CRUZ, R. S.; RODRIGUES, L. B.; ALMEIDA NETO, J. A. De. Improving the energy balance of microalgae biodiesel: Synergy with an autonomous sugarcane ethanol distillery. **Energy**, v. 115, p. 888–895, 2016.
- MARQUES, S. S. I.; NASCIMENTO, I. A.; DE ALMEIDA, P. F.; CHINALIA, F. A. Growth of *Chlorella vulgaris* on sugarcane vinasse: The effect of anaerobic digestion pretreatment. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 171, n. 8, p. 1933–1943, 2013.
- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, E.; ACOSTA-SALMÓN, H.; SOUTHGATE, P. C. The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera* L.) larvae. **Aquaculture**, v. 257, n. 1, p. 491–503, 2006.
- MARUDHUPANDI, T.; GUNASUNDARI, V.; AJITH KUMAR, T. T.; TISSERA, K. R. A. Influence of citrate on *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 386–389, 2014.
- MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, Nidia. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217–232, 2010.
- MATHIMANI, T.; SENTHIL KUMAR, T.; CHANDRASEKAR, M.; UMA, L.; PRABAHARAN, D. Assessment of fuel properties, engine performance and emission characteristics of outdoor grown marine *Chlorella vulgaris* BDUG 91771 biodiesel. **Renewable Energy**, v. 105, p. 637–646, 2017.
- MCMILLAN, J. R.; WATSON, I. A.; ALI, M.; JAAFAR, W. Evaluation and comparison of algal cell disruption methods: Microwave, waterbath, blender, ultrasonic and laser treatment. **Applied Energy**, v. 103, p. 128–134, 2013.
- MENESES-REYES, J. C.; HERNÁNDEZ-EUGENIO, G.; HUBER, D. H.; BALAGURUSAMY, N.; ESPINOSA-SOLARES, T. Oil-extracted *Chlorella vulgaris* biomass and glycerol bioconversion to methane via continuous anaerobic co-digestion with chicken litter. **Renewable Energy**, v. 128, p. 223–229, 2018.
- MILLEDGE, J. J.; HEAVEN, S. A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 12, n. 2, p. 165–178, 2013.

MOHD-SAHIB, A.-A.; LIM, J.-W.; LAM, M.-K.; UEMURA, Y.; ISA, M. H.; HO, C.-D.; KUTTY, S. R. M.; WONG, C.-Y.; ROSLI, S.-S. Lipid for biodiesel production from attached growth *Chlorella vulgaris* biomass cultivating in fluidized bed bioreactor packed with polyurethane foam material. **Bioresource Technology**, v. 239, p. 127–136, 2017.

MOLINA, E.; FERNÁNDEZ, J.; ACIÉN, F. G.; CHISTI, Y. Tubular photobioreactor design for algal cultures. **Journal of Biotechnology**, v. 92, n. 2, p. 113–131, 2001.

MORADI-KHEIBARI, N.; AHMADZADEH, H.; HOSSEINI, M. Use of solvent mixtures for total lipid extraction of *Chlorella vulgaris* and gas chromatography FAME analysis. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 40, n. 9, p. 1363–1373, 2017.

MORALES-SÁNCHEZ, D.; MARTINEZ-RODRIGUEZ, O. A.; MARTINEZ, A. Heterotrophic cultivation of microalgae: production of metabolites of commercial interest. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 92, n. 5, p. 925–936, 2017.

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.

MUJTABA, G.; CHOI, W.; LEE, C.-G.; LEE, K. Lipid production by *Chlorella vulgaris* after a shift from nutrient-rich to nitrogen starvation conditions. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 279–283, 2012.

MURADOV, N.; TAHA, M.; MIRANDA, A. F.; WREDE, D.; KADALI, K.; GUJAR, A.; STEVENSON, T.; BALL, A. S.; MOURADOV, A. Fungal-assisted algal flocculation: application in wastewater treatment and biofuel production. **Biotechnology for Biofuels**, v. 8, n. 1, p. 24, 2015.

MUSSGNUM, J. H.; KLASSEN, V.; SCHLÜTER, A.; KRUSE, O. Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. **Journal of Biotechnology**, v. 150, n. 1, p. 51–56, 2010.

MUTANDA, T.; KARTHIKEYAN, S.; BUX, F. The utilization of post-chlorinated municipal domestic wastewater for biomass and lipid production by *Chlorella* spp. under batch conditions. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 164, n. 7, p. 1126–1138, 2011.

NATRAH, F. M. I.; YUSOFF, F. M.; SHARIFF, M.; ABAS, F.; MARIANA, N. S. Screening of Malaysian indigenous microalgae for antioxidant properties and nutritional value. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, n. 6, p. 711–718, 2007.

NDIKUBWIMANA, T.; ZENG, X.; HE, N.; XIAO, Z.; XIE, Y.; CHANG, J.-S.; LIN, L.; LU, Y. Microalgae biomass harvesting by bioflocculation-interpretation by classical DLVO theory. **Biochemical Engineering Journal**, v. 101, p. 160–167, 2015.

NDIMBA, B. K.; NDIRIMBA, R. J.; JOHNSON, T. S.; WADITEE-SIRISATTHA, R.; BABA, M.; SIRISATTHA, S.; SHIRAIWA, Y.; AGRAWAL, G. K.; RAKWAL, R. Biofuels as a sustainable energy source: An update of the applications of proteomics in bioenergy crops and algae. **Journal of Proteomics**, v. 93, p. 234–244, 2013.

ONAY, M.; SONMEZ, C.; OKTEM, H. A.; YUCEL, A. M. Thermo-resistant green microalgae for effective biodiesel production: Isolation and characterization of unialgal species from geothermal flora of Central Anatolia. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 62–71, 2014.

PAN, Y.; ALAM, Md. A.; WANG, Z.; HUANG, D.; HU, K.; CHEN, H.; YUAN, Z. One-step production of biodiesel from wet and unbroken microalgae biomass using deep eutectic solvent. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 157–163, 2017.

- PANCHA, I.; CHOKSHI, K.; MISHRA, S. Enhanced biofuel production potential with nutritional stress amelioration through optimization of carbon source and light intensity in *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. **Bioresource Technology**, v. 179, p. 565–572, 2015.
- PANDIT, P. R.; FULEKAR, M. H.; KARUNA, M. S. L. Effect of salinity stress on growth, lipid productivity, fatty acid composition, and biodiesel properties in *Acutodesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 15, p. 13437–13451, 2017.
- PAPAZI, A.; MAKRIDIS, P.; DIVANACH, P. Harvesting *Chlorella minutissima* using cell coagulants. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 3, p. 349–355, 2010.
- PARK, J.; KIM, B.; CHANG, Y. K.; LEE, J. W. Wet in situ transesterification of microalgae using ethyl acetate as a co-solvent and reactant. **Bioresource Technology**, v. 230, p. 8–14, 2017.
- PARK, J.-Y.; CHOI, S.-A.; JEONG, M.-J.; NAM, B.; OH, Y.-K.; LEE, J.-S. Changes in fatty acid composition of *Chlorella vulgaris* by hypochlorous acid. **Bioresource Technology**, v. 162, p. 379–383, 2014.
- PATIL, P.; REDDY, H.; MUPPANENI, T.; PONNUSAMY, S.; SUN, Y.; DAILEY, P.; COOKE, P.; PATIL, U.; DENG, S. Optimization of microwave-enhanced methanolysis of algal biomass to biodiesel under temperature controlled conditions. **Bioresource Technology**, v. 137, p. 278–285, 2013.
- PERALTA Y. Y.; KAFAROV V.; SANCHEZ E. Exergy analysis for third generation biofuel production from microalgae biomass. **Chemical Engineering Transactions**, v. 21, p. 1363–1368, 2010.
- PÉREZ, L.; SALGUEIRO, J. L.; MACEIRAS, R.; CANCELA, Á.; SÁNCHEZ, Á. An effective method for harvesting of marine microalgae: pH induced flocculation. **Biomass and Bioenergy**, v. 97, p. 20–26, 2017.
- PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M. E.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 11–36, 2011.
- PIEBER, S.; SCHOBER, S.; MITTELBAACH, M. Pressurized fluid extraction of polyunsaturated fatty acids from the microalga *Nannochloropsis oculata*. **Biomass and Bioenergy**, v. 47, p. 474–482, 2012.
- PIGNOLET, O.; JUBEAU, S.; VACA-GARCIA, C.; MICHAUD, P. Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 40, n. 8, p. 781–796, 2013.
- POSTEN, C. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. **Engineering in Life Sciences**, v. 9, n. 3, p. 165–177, 2009.
- PRABAKARAN, P.; RAVINDRAN, A. D. A comparative study on effective cell disruption methods for lipid extraction from microalgae. **Letters in Applied Microbiology**, v. 53, n. 2, p. 150–154, 2011.
- PROCHAZKOVA, G.; KASTANEK, P.; BRANYIK, T. Harvesting freshwater *Chlorella vulgaris* with flocculant derived from spent brewer's yeast. **Bioresource Technology**, v. 177, p. 28–33, 2015.
- PRUVOST, J.; van VOOREN, G.; LE GOUIC, B.; COUZINET-MOSSION, A.; LEGRAND, J. Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 150–158, 2011.
- RAHUL, R.; KUMAR, S.; JHA, U.; SEN, G. Cationic inulin: A plant based natural biopolymer for algal biomass harvesting. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 868–874, 2015.

- RAMESH KUMAR, V.; NARENDRAKUMAR, G.; THYAGARAJAN, R.; MELCHIAS, G. A comparative analysis of biodiesel production and its properties from *Leptolyngbya* sp. BI-107 and *Chlorella vulgaris* under heat shock stress. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 16, p. 502–506, 2018.
- RAMIREZ, N. N. V.; FARENZENA, M.; TRIERWEILER, J. O.; RAMIREZ, N. N. V.; FARENZENA, M.; TRIERWEILER, J. O. Growth of microalgae *Scenedesmus* sp. in ethanol vinasse. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 5, p. 630–635, 2014.
- RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, Á. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 261–268, 2009.
- RAMSUNDAR, P.; GULDHE, A.; SINGH, P.; BUX, F. Assessment of municipal wastewaters at various stages of treatment process as potential growth media for *Chlorella sorokiniana* under different modes of cultivation. **Bioresource Technology**, v. 227, p. 82–92, 2017.
- RASHID, N.; UR REHMAN, M. S.; SADIQ, M.; MAHMOOD, T.; HAN, J.-I. Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 40, p. 760–778, 2014.
- RAVINDRAN, R.; JAISWAL, A. K. A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste: Challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 92–102, 2016.
- RAWAT, I.; BHOLA, V.; KUMAR, R. R.; BUX, F. Improving the feasibility of producing biofuels from microalgae using wastewater. **Environmental Technology**, v. 34, n. 13–14, p. 1765–1775, 2013.
- RAWAT, I.; RANJITH KUMAR, R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. **Applied Energy**, v. 103, p. 444–467, 2013. b.
- RAWAT, I.; RANJITH KUMAR, R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3411–3424, 2011.
- RENAUD, S. M.; THINH, L.-V.; PARRY, D. L. The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture. **Aquaculture**, v. 170, n. 2, p. 147–159, 1999.
- RODOLFI, L.; ZITTELLI, G. C.; BASSI, N.; PADOVANI, G.; BIONDI, N.; BONINI, G.; TREDICI, M. R. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 102, n. 1, p. 100–112, 2009.
- ROSELET, F.; BURKERT, J.; ABREU, P. C. Flocculation of *Nannochloropsis oculata* using a tannin-based polymer: Bench scale optimization and pilot scale reproducibility. **Biomass and Bioenergy**, v. 87, p. 55–60, 2016.
- ROY, S.; DAS, D. Biohythane production from organic wastes: present state of art. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9391–9410, 2016.
- RUMIN, J.; BONNEFOND, H.; SAINT-JEAN, B.; ROUXEL, C.; SCIANDRA, A.; BERNARD, O.; CADORET, J.-P.; BOUGARAN, G. The use of fluorescent Nile red and BODIPY for lipid measurement in microalgae. **Biotechnology for Biofuels**, v. 8, n. 1, p. 42, 2015.
- RYAN, D.; GADD, A.; KAVANAGH, J.; ZHOU, M.; BARTON, G. A comparison of coagulant dosing options for the remediation of molasses process water. **Separation and Purification Technology**, v. 58, n. 3, p. 347–352, 2008.

- SAFI, C.; URSU, A. V.; LAROCHE, C.; ZEBIB, B.; MERAH, O.; PONTALIER, P.-Y.; VACA-GARCIA, C. Aqueous extraction of proteins from microalgae: Effect of different cell disruption methods. **Algal Research**, v. 3, p. 61–65, 2014.
- SAHOO, P. K.; DAS, L. M.; BABU, M. K. G.; ARORA, P.; SINGH, V. P.; KUMAR, N. R.; VARYANI, T. S. Comparative evaluation of performance and emission characteristics of jatropha, karanja and polanga based biodiesel as fuel in a tractor engine. **Fuel**, v. 88, n. 9, p. 1698–1707, 2009.
- SALAMA, E.-S.; JEON, B.-H.; KURADE, M. B.; ABOU-SHANAB, R. A. I.; GOVINDWAR, S. P.; LEE, S.; YANG, I.-S.; LEE, D. S. Harvesting of freshwater microalgae *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris* using acid mine drainage as a cost effective flocculant for biofuel production. **Energy Conversion and Management**, v. 121, p. 105–112, 2016.
- SALAMA, E.-S.; KURADE, M. B.; ABOU-SHANAB, R. A. I.; EL-DALATONY, M. M.; YANG, I.-S.; MIN, B.; JEON, B.-H. Recent progress in microalgal biomass production coupled with wastewater treatment for biofuel generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 1189–1211, 2017.
- SALIM, S.; BOSMA, R.; VERMUË, M. H.; WIJFFELS, R. H. Harvesting of microalgae by bio-flocculation. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, n. 5, p. 849–855, 2011.
- SALIM, S.; VERMUË, M. H.; WIJFFELS, R. H. Ratio between autoflocculating and target microalgae affects the energy-efficient harvesting by bio-flocculation. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 49–55, 2012.
- SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; SARIN, R.; MALHOTRA, R. K.; KUNDU, K. Effect of blends of Palm-Jatropha-Pongamia biodiesels on cloud point and pour point. **Energy**, v. 34, n. 11, p. 2016–2021, 2009.
- SATHISH, A.; SIMS, R. C. Biodiesel from mixed culture algae via a wet lipid extraction procedure. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 118, p. 643–647, 2012.
- SCRAGG, A. H.; ILLMAN, A. M.; CARDEN, A.; SHALES, S. W. Growth of microalgae with increased calorific values in a tubular bioreactor. **Biomass and Bioenergy**, v. 23, n. 1, p. 67–73, 2002.
- SCRAGG, A. H.; MORRISON, J.; SHALES, S. W. The use of a fuel containing *Chlorella vulgaris* in a diesel engine. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 33, n. 7, p. 884–889, 2003.
- SELVARAJAN, R.; FELFÖLDI, T.; TAUBER, T.; SANNIYASI, E.; SIBANDA, T.; TEKERE, M. Screening and evaluation of some green algal strains (*Chlorophyceae*) isolated from freshwater and soda lakes for biofuel production. **Energies**, v. 8, n. 7, p. 7502–7521, 2015.
- SEYFABADI, J.; RAMEZANPOUR, Z.; AMINI KHOEYI, Z. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, n. 4, p. 721–726, 2011.
- SHAH, S. M. U.; CHE RADZIAH, C.; IBRAHIM, S.; LATIFF, F.; OTHMAN, M. F.; ABDULLAH, M. A. Effects of photoperiod, salinity and pH on cell growth and lipid content of *Pavlova lutheri*. **Annals of Microbiology**, v. 64, n. 1, p. 157–164, 2014.
- SHARMA, A. K.; SAHOO, P. K.; SINGHAL, S.; JOSHI, G. Exploration of upstream and downstream process for microwave assisted sustainable biodiesel production from microalgae *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 793–800, 2016.
- SHEN, X.-F.; CHU, F.-F.; LAM, P. K. S.; ZENG, R. J. Biosynthesis of high yield fatty acids from *Chlorella vulgaris* NIES-227 under nitrogen starvation stress during heterotrophic cultivation. **Water Research**, v. 81, p. 294–300, 2015.

- SHENG, J.; VANNELA, R.; RITTMANN, B. E. Evaluation of methods to extract and quantify lipids from *Synechocystis* PCC 6803. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 1697–1703, 2011.
- SHI, J.; PODOLA, B.; MELKONIAN, M. Application of a prototype-scale Twin-Layer photobioreactor for effective N and P removal from different process stages of municipal wastewater by immobilized microalgae. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 260–266, 2014.
- SHUMAN, T. R.; MASON, G.; MARSOLEK, M. D.; LIN, Y.; REEVE, D.; SCHACHT, A. An ultra-low energy method for rapidly pre-concentrating microalgae. **Bioresource Technology**, v. 158, p. 217–224, 2014.
- SIALVE, B.; BERNET, N.; BERNARD, O. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 4, p. 409–416, 2009.
- SIERRA, E.; ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ, J. M.; GARCÍA, J. L.; GONZÁLEZ, C.; MOLINA, E. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. **Chemical Engineering Journal**, v. 138, n. 1, p. 136–147, 2008.
- SINGH, B.; GULDHE, A.; RAWAT, I.; BUX, F. Towards a sustainable approach for development of biodiesel from plant and microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 29, p. 216–245, 2014.
- SINGH, S. P.; SINGH, P. Effect of CO<sub>2</sub> concentration on algal growth: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 38, p. 172–179, 2014.
- SIVARAMAKRISHNAN, R.; INCHAROENSAKDI, A. Utilization of microalgae feedstock for concomitant production of bioethanol and biodiesel. **Fuel**, v. 217, p. 458–466, 2018.
- SKJÅNES, K.; REBOURS, C.; LINDBLAD, P. Potential for green microalgae to produce hydrogen, pharmaceuticals and other high value products in a combined process. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 33, n. 2, p. 172–215, 2013.
- SLADE, R.; BAUEN, A. Micro-algae cultivation for biofuels: Cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. **Biomass and Bioenergy**, v. 53, p. 29–38, 2013.
- SLEGGERS, P. M.; WIJFFELS, R. H.; VAN STRATEN, G.; VAN BOXTEL, A. J. B. Design scenarios for flat panel photobioreactors. **Applied Energy**, Special Issue of Energy from algae: Current status and future trends. v. 88, n. 10, p. 3342–3353, 2011.
- SMITH-BÄDORF, H. D.; CHUCK, C. J.; MOKEBO, K. R.; MACDONALD, H.; DAVIDSON, M. G.; SCOTT, R. J. Bioprospecting the thermal waters of the Roman baths: isolation of oleaginous species and analysis of the FAME profile for biodiesel production. **AMB Express**, v. 3, n. 1, p. 9, 2013.
- SOMNUK, K.; PRASIT, T.; PRATEEPCHAIKUL, G. Effects of mixing technologies on continuous methyl ester production: Comparison of using plug flow, static mixer, and ultrasound clamp. **Energy Conversion and Management**, v. 140, p. 91–97, 2017.
- SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87–96, 2006.
- SU, C.-H.; CHIEN, L.-J.; GOMES, J.; LIN, Y.-S.; YU, Y.-K.; LIOU, J.-S.; SYU, R.-J. Factors affecting lipid accumulation by *Nannochloropsis oculata* in a two-stage cultivation process. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, n. 5, p. 903–908, 2011.



- SUALI, E.; SARBATLY, R. Conversion of microalgae to biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 6, p. 4316–4342, 2012.
- SUGANYA, T.; NAGENDRA GANDHI, N.; RENGANATHAN, S. Production of algal biodiesel from marine macroalgae *Enteromorpha compressa* by two step process: Optimization and kinetic study. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 392–400, 2013.
- SUN, X.; CAO, Y.; XU, H.; LIU, Y.; SUN, J.; QIAO, D.; CAO, Y. Effect of nitrogen-starvation, light intensity and iron on triacylglyceride/carbohydrate production and fatty acid profile of *Neochloris oleoabundans* HK-129 by a two-stage process. **Bioresource Technology**, v. 155, p. 204–212, 2014.
- SUTHAR, S.; VERMA, R. Production of *Chlorella vulgaris* under varying nutrient and abiotic conditions: A potential microalga for bioenergy feedstock. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 113, p. 141–148, 2018.
- SYDNEY, E. B.; DA SILVA, T. E.; TOKARSKI, A.; NOVAK, A. C.; DE CARVALHO, J. C.; WOICIECHOWSKI, A. L.; LARROCHE, C.; SOCCOL, C. R. Screening of microalgae with potential for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3291–3294, 2011.
- TALEB, A.; KANDILIAN, R.; TOUCHARD, R.; MONTALESCOT, V.; RINALDI, T.; TAHA, S.; TAKACHE, H.; MARCHAL, L.; LEGRAND, J.; PRUVOST, J. Screening of freshwater and seawater microalgae strains in fully controlled photobioreactors for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 480–490, 2016.
- TALEBI, A. F.; TOHIDFAR, M.; TABATABAEI, M.; BAGHERI, A.; MOHSENPOR, M.; MOHTASHAMI, S. K. Genetic manipulation, a feasible tool to enhance unique characteristic of *Chlorella vulgaris* as a feedstock for biodiesel production. **Molecular Biology Reports**, v. 40, n. 7, p. 4421–4428, 2013.
- TALUKDER, Md. M. R.; DAS, P.; WU, J. C. Immobilization of microalgae on exogenous fungal mycelium: A promising separation method to harvest both marine and freshwater microalgae. **Biochemical Engineering Journal**, v. 91, p. 53–57, 2014.
- TAN, X.; CHU, H.; ZHANG, Y.; YANG, L.; ZHAO, F.; ZHOU, X. *Chlorella pyrenoidosa* cultivation using anaerobic digested starch processing wastewater in an airlift circulation photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 538–548, 2014.
- TANG, S.; QIN, C.; WANG, H.; LI, S.; TIAN, S. Study on supercritical extraction of lipids and enrichment of DHA from oil-rich microalgae. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 57, n. 1, p. 44–49, 2011.
- TAYLOR, R. L.; RAND, J. D.; CALDWELL, G. S. Treatment with algae extracts promotes flocculation, and enhances growth and neutral lipid content in *nannochloropsis oculata*—A candidate for biofuel production. **Marine Biotechnology**, v. 14, n. 6, p. 774–781, 2012.
- THAMPY, K. G.; WAKIL, S. J. Activation of acetyl-CoA carboxylase. Purification and properties of a  $Mn^{2+}$ -dependent phosphatase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 260, n. 10, p. 6318–6323, 1985.
- TORNABENE, T. G.; HOLZER, G.; LIEN, S.; BURRIS, N. Lipid composition of the nitrogen starved green alga *Neochloris oleoabundans*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 5, n. 6, p. 435–440, 1983.
- TRAN, D.-T.; YEH, K.-L.; CHEN, C.-L.; CHANG, J.-S. Enzymatic transesterification of microalgal oil from *Chlorella vulgaris* ESP-31 for biodiesel synthesis using immobilized *Burkholderia* lipase. **Bioresource Technology**, v. 108, p. 119–127, 2012.

- TÜCCAR, G.; AYDIN, K. Evaluation of methyl ester of microalgae oil as fuel in a diesel engine. **Fuel**, v. 112, p. 203–207, 2013.
- UDUMAN, N.; QI, Y.; DANQUAH, M. K.; FORDE, G. M.; HOADLEY, A. Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 2, n. 1, p. 012701, 2010.
- UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4021–4028, 2008.
- UMMALYMA, S. B.; GNANSOUNOU, E.; SUKUMARAN, R. K.; SINDHU, R.; PANDEY, A.; SAHOO, D. Bioflocculation: An alternative strategy for harvesting of microalgae – An overview. **Bioresource Technology**, v. 242, p. 227–235, 2017.
- UNC, A.; MONFET, E.; POTTER, A.; CAMARGO-VALERO, M. A.; SMITH, S. R. Note to Editor: Microalgae cultivation for wastewater treatment and biofuel production: a bibliographic overview of past and current trends. **Algal Research**, v. 24, p. 2–7, 2017.
- UNTERLANDER, N.; CHAMPAGNE, P.; PLAXTON, W. C. Lyophilization pretreatment facilitates extraction of soluble proteins and active enzymes from the oil-accumulating microalga *Chlorella vulgaris*. **Algal Research**, v. 25, p. 439–444, 2017.
- URSU, A.-V.; MARCATI, A.; SAYD, T.; SANTE-LHOUTELLIER, V.; DJELVEH, G.; MICHAUD, P. Extraction, fractionation and functional properties of proteins from the microalgae *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 157, p. 134–139, 2014.
- VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 4, p. 233–239, 2013.
- VANDAMME, D.; PONTES, S. C. V.; GOIRIS, K.; FOUBERT, I.; PINOY, L. J. J.; MUYLAERT, K. Evaluation of electro-coagulation–Flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 108, n. 10, p. 2320–2329, 2011.
- VELJKOVIĆ, V. B.; BANKOVIĆ-ILIĆ, I. B.; STAMENKOVIĆ, O. S. Purification of crude biodiesel obtained by heterogeneously-catalyzed transesterification. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, p. 500–516, 2015.
- VONSHAK, A.; RICHMOND, A. Mass production of the blue-green alga *Spirulina*: An overview. **Biomass**, v. 15, n. 4, p. 233–247, 1988.
- WAHIDIN, S.; IDRIS, A.; SHALEH, S. R. M. Ionic liquid as a promising biobased green solvent in combination with microwave irradiation for direct biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 206, p. 150–154, 2016.
- WAHLEN, B. D.; MORGAN, M. R.; MCCURDY, A. T.; WILLIS, R. M.; MORGAN, M. D.; DYE, D. J.; BUGBEE, B.; WOOD, B. D.; SEEFELDT, L. C. Biodiesel from microalgae, yeast, and bacteria: Engine performance and exhaust emissions. **Energy & Fuels**, v. 27, n. 1, p. 220–228, 2013.
- WAN GHAZALI, W. N. M.; MAMAT, R.; MASJUKI, H. H.; NAJAFI, G. Effects of biodiesel from different feedstocks on engine performance and emissions: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 51, p. 585–602, 2015.
- WANG, J.; LIU, J.; LIU, T. The difference in effective light penetration may explain the superiority in photosynthetic efficiency of attached cultivation over the conventional open pond for microalgae. **Biotechnology for Biofuels**, v. 8, n. 1, p. 49, 2015.

- WANG, J.; YANG, H.; WANG, F. Mixotrophic Cultivation of Microalgae for Biodiesel Production: Status and Prospects. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 7, p. 3307–3329, 2014.
- WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 6, p. 300–312, 2006.
- WANG, M.; YANG, Y.; CHEN, Z.; CHEN, Y.; WEN, Y.; CHEN, B. Removal of nutrients from undiluted anaerobically treated piggery wastewater by improved microalgae. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 130–138, 2016.
- WANG, W.; ZHOU, W.; LIU, J.; LI, Y.; ZHANG, Y. Biodiesel production from hydrolysate of *Cyperus esculentus* waste by *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 24–29, 2013.
- WIECZOREK, N.; KUCUKER, M. A.; KUCHTA, K. Fermentative hydrogen and methane production from microalgal biomass (*Chlorella vulgaris*) in a two-stage combined process. **Applied Energy**, v. 132, p. 108–117, 2014.
- WILTSHIRE, K. H.; BOERSMA, M.; MÖLLER, A.; BUHTZ, H. Extraction of pigments and fatty acids from the green alga *Scenedesmus obliquus* (*Chlorophyceae*). **Aquatic Ecology**, v. 34, n. 2, p. 119–126, 2000.
- WONG, Y. K.; HO, Y. H.; HO, K. C.; LEUNG, H. M.; YUNG, K. K. L. Maximization of cell growth and lipid production of freshwater microalga *Chlorella vulgaris* by enrichment technique for biodiesel production. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 10, p. 9089–9101, 2017.
- WU, Z.; ZHU, Y.; HUANG, W.; ZHANG, C.; LI, T.; ZHANG, Y.; LI, A. Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 496–502, 2012.
- XAALDI KALHOR, A.; MOHAMMADI NASSAB, A. D.; ABEDI, E.; BAHRAMI, A.; MOVAFEGHI, A. Biodiesel production in crude oil contaminated environment using *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 190–194, 2016.
- XIA, A.; JACOB, A.; TABASSUM, M. R.; HERRMANN, C.; MURPHY, J. D. Production of hydrogen, ethanol and volatile fatty acids through co-fermentation of macro- and micro-algae. **Bioresource Technology**, v. 205, p. 118–125, 2016.
- XIA, A.; MURPHY, J. D. Microalgal Cultivation in Treating Liquid Digestate from Biogas Systems. **Trends in Biotechnology**, v. 34, n. 4, p. 264–275, 2016.
- XIA, L.; GE, H.; ZHOU, X.; ZHANG, D.; HU, C. Photoautotrophic outdoor two-stage cultivation for oleaginous microalgae *Scenedesmus obtusus* XJ-15. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 261–267, 2013.
- XIA, L.; RONG, J.; YANG, H.; HE, Q.; ZHANG, D.; HU, C. NaCl as an effective inducer for lipid accumulation in freshwater microalgae *Desmodesmus abundans*. **Bioresource Technology**, v. 161, p. 402–409, 2014.
- XIE, S.; SUN, S.; DAI, S. Y.; S.YUAN, J. Efficient coagulation of microalgae in cultures with filamentous fungi. **Algal Research**, v. 2, n. 1, p. 28–33, 2013.
- XIONG, W.; LI, X.; XIANG, J.; WU, Q. High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 78, n. 1, p. 29–36, 2008.

- XU, Y.; DING, H.; LUO, C.; ZHENG, Y.; XU, Y.; LI, X.; ZHANG, Z.; SHEN, C.; ZHANG, L. Effect of lignin, cellulose and hemicellulose on calcium looping behavior of CaO-based sorbents derived from extrusion-spherization method. **Chemical Engineering Journal**, v. 334, p. 2520–2529, 2018.
- YANG, J.; XU, M.; ZHANG, X.; HU, Q.; SOMMERFELD, M.; CHEN, Y. Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 159–165, 2011.
- YEH, K.-L.; CHANG, J.-S. Effects of cultivation conditions and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31. **Bioresource Technology**, v. 105, p. 120–127, 2012.
- YEN, H.-W.; HU, I.-C.; CHEN, C.-Y.; HO, S.-H.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Microalgae-based biorefinery – From biofuels to natural products. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 166–174, 2013.
- YOO, C.; JUN, S.-Y.; LEE, J.-Y.; AHN, C.-Y.; OH, H.-M. Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. S71–S74, 2010.
- ZHANG, Q.; LI, X.; GUO, D.; YE, T.; XIONG, M.; ZHU, L.; LIU, C.; JIN, S.; HU, Z. Operation of a vertical algal biofilm enhanced raceway pond for nutrient removal and microalgae-based byproducts production under different wastewater loadings. **Bioresource Technology**, v. 253, p. 323–332, 2018.
- ZHANG, S.; LIU, P.; YANG, X.; HAO, Z.; ZHANG, L.; LUO, N.; SHI, J. Isolation and identification by 18S rDNA sequence of high lipid potential microalgal species for fuel production in Hainan Dao. **Biomass and Bioenergy**, v. 66, p. 197–203, 2014.
- ZHANG, X.; HU, Q.; SOMMERFELD, M.; PURUHITO, E.; CHEN, Y. Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5297–5304, 2010.
- ZHANG, Y.; HE, M.; ZOU, S.; FEI, C.; YAN, Y.; ZHENG, S.; RAJPER, A. A.; WANG, C. Breeding of high biomass and lipid producing *Desmodesmus* sp. by ethylmethane sulfonate-induced mutation. **Bioresource Technology**, v. 207, p. 268–275, 2016.
- ZHENG, H.; GAO, Z.; YIN, J.; TANG, X.; JI, X.; HUANG, H. Harvesting of microalgae by flocculation with poly ( $\gamma$ -glutamic acid). **Bioresource Technology**, v. 112, p. 212–220, 2012.
- ZHOU, W.; CHEN, P.; MIN, M.; MA, X.; WANG, J.; GRIFFITH, R.; HUSSAIN, F.; PENG, P.; XIE, Q.; LI, Y.; SHI, J.; MENG, J.; RUAN, R. Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 256–269, 2014.
- ZHOU, W.; MIN, M.; HU, B.; MA, X.; LIU, Y.; WANG, Q.; SHI, J.; CHEN, P.; RUAN, R. Filamentous fungi assisted bio-flocculation: A novel alternative technique for harvesting heterotrophic and autotrophic microalgal cells. **Separation and Purification Technology**, v. 107, p. 158–165, 2013.
- ZHU, L.-D.; LI, Z.-H.; GUO, D.-B.; HUANG, F.; NUGROHO, Y.; XIA, K. Cultivation of *Chlorella* sp. with livestock waste compost for lipid production. **Bioresource Technology**, v. 223, p. 296–300, 2017.

## SOBRE OS AUTORES

**CHARLENE RAQUEL DE ALMEIDA VIANA** - Programa de Bioenergia, Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN)

**RICARDO ALAN VERDÚ RAMOS** - Departamento de Engenharia Mecânica, Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN), ORCID: 0000-0001-9620-7329

**BRUNO RAFAEL DE ALMEIDA MOREIRA** - Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos, Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), ORCID: 0000-0002-8686-4082

**RONALDO DA SILVA VIANA** - Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista (Unesp), ORCID: 0000-0001-6819-5092

**PAULO ALEXANDRE MONTEIRO DE FIGUEIREDO** - Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista (Unesp), 0000-0003-4505-6975

**SÉRGIO BISPO RAMOS** - Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista (Unesp), 0000-0002-4406-5792

# Tecnologia de **Biodiesel** **Microalgal**

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)



**Atena**  
Editora

Ano 2021



# Tecnologia de **Biodiesel** **Microalgal**

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)



**Atena**  
Editora  
Ano 2021