

MICROALGAS: APLICAÇÕES EM BIORREMEDIAÇÃO E ENERGIA

Pablo Gressler¹
Rosana Schneider¹
Valeriano Corbellini¹
Thiago Bjerk¹
Maiara Souza²
Ana Zappe²
Eduardo A. Lobo¹

INTRODUÇÃO

A imensa biodiversidade, e conseqüente variabilidade na composição bioquímica das microalgas, aliada ao emprego de melhoramento genético e ao estabelecimento de tecnologia de cultivo em grande escala, vêm permitindo que as microalgas sejam utilizadas em diversas aplicações (DERNER, 2006; BOROWITZKA, 1999; UMBLE & KETCHUM, 1997; ROSEMBERG et al., 2008).

Neste contexto, este trabalho teve por objetivo contribuir para a análise do estado da arte sobre o uso de microalgas na remoção de nutrientes de efluentes e destacar aspectos relacionados ao aproveitamento do potencial oleaginoso das mesmas para a produção de bioenergia.

Microalgas, uma abordagem geral.

Em ficologia aplicada, o termo faz referência às algas microscópicas assim como às bactérias fotossintéticas denominadas no passado por Cianofíceas e atualmente reconhecidas como Cianobactérias (TOMASELLI, 2004).

Técnicas de biologia molecular atualmente têm sido usadas para a classificação das microalgas (HU, 2004) e elas são encontradas em todo o planeta, predominantemente distribuídas nas águas, mas também em superfícies de todos os tipos de solo.

¹ Programa de Pós Graduação em Tecnologia Ambiental – Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC, RS, Brasil (pablo.3105@yahoo.com.br). ² Bolsista Programa UNISC de Iniciação Científica.

No geral tem vida livre, mas certo número de espécies vive em relações harmônicas, como, por exemplo, o mutualismo entre a cianobactéria *Anabaena azollae* e a macrófita aquática *Azolla filiculoides*.

Neste mutualismo a cianobactéria encontra na macrófita um ambiente livre de oxigênio, fator essencial para a fixação do nitrogênio, então a macrófita se beneficia deste nitrogênio também para o seu desenvolvimento (DOUMIT, 2004), uma característica interessante para a recuperação de meios eutrofizados.

Apesar de existirem diferenças estruturais e morfológicas que permitem classificar as microalgas em diferentes divisões, estes organismos são fisiologicamente similares e apresentam um metabolismo análogo àquele das plantas (ABALDE et al., 1995). São responsáveis pela maior parte da produção de oxigênio molecular disponível no planeta a partir da fotossíntese (CHISTI, 2004).

Estes indivíduos (produtores primários) armazenam energia solar, convertendo-a em energia biológica, sendo a biomassa das microalgas a base de inúmeras cadeias tróficas nos ambientes aquáticos. Os constituintes deste nível trófico sintetizam nova matéria orgânica a partir de substratos inorgânicos como sais (nutrientes), CO₂ e água. Esta energia biológica é utilizada em sua maior parte como alimento pelos organismos que constituem o segundo nível trófico (consumidores primários), dando continuidade às cadeias alimentares aquáticas (ARREDONDO-VEGA, 1995; DERNER, 2006).

O número exato de espécies de microalgas ainda é desconhecido, contudo na literatura encontram-se citações relatando que podem existir entre 200.000 até alguns milhões de representantes deste grupo. Tal diversidade também se reflete na composição bioquímica e, desta forma, as microalgas são fonte de uma quantidade ilimitada de produtos como ácidos graxos poliinsaturados, corantes e enzimas (NORTON et al., 1996; PULZ & GROSS, 2004).

Fazendo uma abordagem sobre os aspectos que afetam o crescimento de uma população de microalgas, primeiramente é importante salientar que existe uma grande interdependência de parâmetros biológicos, físicos e químicos (RAVEN, 1988). Os fatores biológicos estão relacionados às próprias taxas metabólicas da espécie cultivada, bem como a possível influência de outros organismos sobre o desenvolvimento algal (DERNER, 2006).

Com relação aos fatores físico-químicos, estes dizem respeito principalmente à iluminação, temperatura e pH, regime hidrodinâmico e disponibilidade de nutrientes (GUILLARD, 1975; YONGMANITCHAI & WARD, 1991; LOURENÇO & MARQUES, 2002). O efeito da intensidade da luz (irradiância ou iluminação) nos cultivos de microalgas tem sido estudado em detalhes.

É através da fotossíntese que as microalgas fixam o carbono necessário para a produção de biomassa, logo a relação entre a síntese de material orgânico como reflexo da produção fotossintética pode ser expressa principalmente pelo incremento da população algal (BALECH, 1977). O fato de a luz variar tanto no espaço (profundidade e latitude) quanto no tempo (diariamente e sazonalmente), influencia o tamanho da população (DARLEY, 1982).

A luz utilizada pelas algas fotossintetizantes encontra-se na faixa espectral da radiação solar de 400 a 700 nm, e é absorvida pelos pigmentos fotossintetizantes (unidades fotossintéticas). Esses pigmentos são classificados em três grupos: as clorofilas, os carotenóides e as ficobilinas, sendo que cada um difere em sua composição química e apresenta diferente capacidade de absorver luz em determinado comprimento de onda (SUH & LEE, 2003).

Em cultivos fotoautotróficos, a quantidade de energia luminosa recebida pelo sistema fotossintético irá repercutir na quantidade de carbono que pode ser fixado, determinando conseqüentemente a produção de biomassa e a taxa de crescimento das culturas microalgais (DERNER, 2006; TZOVENIS et al., 2003). Contudo, para algumas espécies, o aumento da concentração celular microalgal, no decorrer do cultivo, gera o efeito de auto-sombreamento entre as células, diminuindo a quantidade de luz disponível por célula.

Como resultado, a eficiência fotossintética diminui, acarretando uma diminuição da produtividade de biomassa (SOARES, 2010). Estes danos causados pelo excesso de luz são descritos usando o termo fotoinibição (RICHMOND, 2004).

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes na composição bioquímica das microalgas (RICHMOND, 2004). Segundo Nishida e Murata (1996), um decréscimo na temperatura de cultivo abaixo do nível ótimo geralmente aumenta o grau de insaturação dos sistemas de membrana lipídica das células (que promovem as trocas com o meio). Ainda, segundo os mesmos autores, o aumento da estabilidade e fluidez das membranas celulares, particularmente as membranas tilacóides, protegem o “maquinário” fotossintético da fotoinibição (redução do crescimento celular em função do excesso de luz que cessa a fotossíntese) a baixas temperaturas.

Além disso, a temperatura influencia no aumento ou diminuição do conteúdo lipídico celular, seja por classe ou composição relativa dos lipídios (MURATA, 1989; RICHMOND, 2004). Conforme Thompson et al. (1992), decréscimos na temperatura de cultivo abaixo do ótimo fisiológico podem resultar no aumento da produção de enzimas como um mecanismo adaptativo para manutenção das taxas fotossintéticas e respiração.

A temperatura de cultivo é tida como influente também no conteúdo celular das quotas de carbono e nitrogênio, bem como no volume celular de modo que a temperatura

ótima para o crescimento pode acarretar células com tamanho, volume celular de carbono e nitrogênio reduzido (GOLDMAN, 1980; RHEE, 1982; HARRIS, 1988; DARLEY, 1982).

A agitação que promove a mistura da suspensão microalgal é um fator de extrema importância pelo fato de possibilitar o acesso das células à luz, auxilia a troca de gases, diminui o efeito da estratificação térmica bem como propicia uma melhor distribuição dos nutrientes (SOARES, 2010). Todos estes fatores influenciam na produtividade da biomassa microalgal (SUH & LEE, 2003). A otimização da produtividade de biomassa microalgal requer um fluxo turbulento. No entanto, um fluxo turbulento muito alto produzido pelo bombeamento pode causar um estresse hidrodinâmico, que resulta em dano celular (SOARES, 2010).

Quanto aos macronutrientes, as microalgas requerem carbono (C), nitrogênio (N), oxigênio (O), hidrogênio (H) e fósforo (P), além de cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e potássio (K). Como micronutrientes, geralmente requerem ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), molibdênio (Mo) e cobalto (Co), enquanto que algumas espécies também necessitam baixas concentrações de vitaminas no meio de cultura (GUILLARD, 1975). Os principais elementos limitantes do crescimento são o carbono, nitrogênio, fósforo e ferro (LOURENÇO, 2006, RICHMOND, 2004).

As microalgas de uma mesma espécie possuem diferentes quantidades de proteínas, carboidratos e lipídeos, quando cultivadas em meios com diferentes quantidades de nutrientes (WIKFORS, 1986; OTERO et al., 1998). O carbono é considerado um dos elementos mais importantes, uma vez que constitui cerca de 50% da biomassa microalgal (SOARES, 2010). No meio de cultura, o carbono inorgânico pode estar na forma de dióxido de carbono (CO_2), ácido carbônico (H_2CO_3), bicarbonato (HCO_3^-) ou carbonato (CO_3^{2-}) e suas proporções dependem do pH. A maioria das espécies microalgais são fotoautotróficas, ou seja, através da fotossíntese obtém-se energia da luz para fixar o carbono a partir do CO_2 (LOPES, 2007).

Além do carbono, segundo HU (2004), o nitrogênio perfaz em média cerca de 7-10% do peso seco da biomassa microalgal e é essencial à constituição das proteínas estruturais e funcionais. A fotossíntese prossegue sob limitação do nitrogênio, porém em taxas reduzidas. Sob estas circunstâncias o fluxo de fixação do carbono na fotossíntese é direcionado da função de síntese protéica para priorizar a síntese de lipídios ou carboidratos (HU, 2004, Richmond, 2004).

Quando há deficiência de nitrogênio, os lipídios neutros, na forma de triacilglicerol tornam-se os componentes predominantes entre os lipídios celulares (THOMPSON et al. 1992). Contudo, a síntese de lipídios neutros ou carboidratos sob limitação de nitrogênio é intraespecífica, ou seja, varia inclusive dentro da própria

espécie biológica destacando que sua significância fisiológica não está clara (RICHMOND, 2004).

Este é um aspecto limitante para o emprego de microalgas para a biorremediação de efluentes com alto teor de nitrogênio associado à obtenção de óleo da biomassa. Nestes casos, a biomassa pode ser utilizada para a produção de álcool em processos fermentativos, uma vez que, não se torna interessante para a produção de biodiesel.

Outro macronutriente que desempenha papel fundamental no metabolismo celular das microalgas é o fósforo, por estar presente em diversos componentes funcionais e estruturais requeridos ao crescimento normal e desenvolvimento das microalgas. De acordo com Goldman (1980), quando nutrientes estão disponíveis em excesso e a luz é o fator limitante do crescimento, muitas espécies de algas apresentam notável consistência no teor de fósforo, cerca de 1% do peso seco.

Alguns sintomas da depleção de fósforo são similares aos observados em culturas deficientes em nitrogênio, onde o conteúdo de clorofila a decresce enquanto o teor de carboidratos aumenta tanto em células eucarióticas como procarióticas (HEALEY, 1982).

O efeito do pH no cultivo de microalgas é complexo, uma vez que existe dificuldade em dissociar os efeitos diretos do crescimento microbiano, dos efeitos colaterais expressos em termos de modificações no sistema $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ (dióxido de carbono/bicarbonato/carbonato) bem como no equilíbrio $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ (amônia/íon amônio) (BERENGUEL et al., 2004).

O consumo das formas inorgânicas de carbono pelas algas eleva o pH, devido ao fato do aparato fotossintético destes organismos transportar íons hidroxila para o exterior da célula, reação catalisada pela enzima anidrase carbônica, associado à captação de íons H^+ para o interior das membranas tilacóides (LOPES, 2007). Segundo Nurdogan e Oswald (1995), o pH influencia a eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo através da volatilização da amônia pela reação: $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \leftrightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$, além da precipitação de ortofosfato.

Biorremediação e potencial bioenergético das microalgas

Diversos estudos utilizando o cultivo de algas são realizados em áreas como tratamento de águas residuais de processos industriais, detoxificação biológica e remoção de metais pesados. Além disso, estes organismos são utilizados como bioindicadores para detecção de nutrientes e substâncias tóxicas (p.ex., detergentes, efluentes industriais, herbicidas) (LOBO et al. 2002, 2004; CERTIK & SHIMIZU, 1999; KIRK & BEHRENS, 1999; LEMAN, 1997; BRUNO, 2001; GROBBELAAR, 2004; RICHMOND, 2004).

Sua aplicação também se estende a outras áreas como produção de moléculas com potencial atividade biológica, na agricultura com aproveitamento da biomassa como biofertilizante e na mitigação do efeito estufa, pela assimilação do dióxido de carbono (CO₂), resultado da queima de combustíveis fósseis e das práticas agrícolas impróprias como, por exemplo, as queimadas. Por fim, possibilita a produção de biocombustíveis como o biodiesel e o álcool (MIAO & WU, 2006; SCHENK et al., 2008; VÍLCHEZ et al., 1997).

Devido à grande importância que o tema de bioenergia representa sob a ótica econômica e ambiental neste novo milênio, e sendo o Brasil um país-continente rico em recursos aquáticos, é totalmente oportuno e já estão em prática, iniciativas envolvendo o cultivo de algas para fins energéticos. Estimativas conservadoras da produtividade de óleo de microalgas apontam os valores de 30.000 – 50.000 L ha⁻¹ ano⁻¹, em comparação a 1300 – 2400 L ha⁻¹ ano⁻¹, registrados para as espécies vegetais como a palma e a jatropha (WILLIAMS, 2007).

Contudo, questionamentos como qual a forma de cultivo mais econômica para atividade; quantidade de matéria-prima obtida com algas em comparação com a de outras espécies vegetais oleaginosas; produção de algas com baixo consumo de água e a possibilidade do uso de insumos baratos (como águas residuais e CO₂ proveniente da exaustão de termelétricas) são algumas das preocupações deste segmento (MORAIS & COSTA, 2008; SHEEHAN et al., 1998).

As possibilidades de aplicação das microalgas no tratamento de águas residuais são fundamentalmente remoção de nutrientes e metais pesados. Existem estudos também sobre a utilização destes organismos na remoção de compostos orgânicos tóxicos, como fenóis e clorofenóis (DINIS et al. 2004).

Conforme Oswald (1988), nas lagoas fotossintéticas o nitrogênio orgânico é convertido em nitrogênio amoniacal ou em nitrogênio gasoso. Este último é produzido através de desnitrificação heterotrófica na parte anaeróbia da lagoa e é libertado para a atmosfera juntamente com o metano. O nitrogênio amoniacal é assimilado pelas algas durante o seu crescimento. O excedente é convertido em hidróxido de amônio, que a pH elevado é libertado para o ar durante agitação suave. O fósforo também é assimilado ou precipita a pH elevado sob a forma de fosfato de cálcio.

Quanto à remoção de metais pesados, conforme Tam et al. (1998), espécies como *Chlorella* spp. e *Scenedesmus* spp. são eficientes na remoção e recuperação de metais. Ainda o mecanismo de remoção de metais pesados resulta desses microrganismos por possuírem uma carga elétrica superficial negativa e, portanto, uma afinidade para os metais pesados, que se apresentam normalmente como cátions.

Estes protistas concentram certos metais pesados cerca de 1000 vezes mais nas suas células do que as concentrações existentes no meio exterior. Esta bioampliação depende da concentração de células, tipo e concentração de metais pesados, da sua interferência com outros íons, da forma como as células são pré-tratadas e das condições ambientais (TAM et al., 1998).

A idéia do uso de microalgas em processos de biorremediação foi inicialmente proposta por Oswald e Gotaas (1957), mas ganhou impulso a partir da década de 80 (PROULX & DE LA NÖUE, 1988; OSWALD, 1988). Sistemas de microrganismos são hábeis para eliminar de forma eficiente compostos de nitrogênio e fósforo responsáveis pelos problemas da eutrofização (LALIBERTÉ et al., 1992). O uso de microalgas para biorremediação apresenta diversas vantagens (TALBOT & DE LA NÖUE, 1988) tais como:

- a) utilização de energia barata e abundante (luz solar);
- b) produção de biomassa para alimentação animal;
- c) obtenção de produtos de alto valor agregados e de química fina.

Algumas espécies de algas, como as diatomáceas, encontram uso também na avaliação da qualidade dos sistemas aquáticos, para os quais, inclusive, já foram sugeridos índices de poluição como, por exemplo, Gomez e Licursi (2001) na Argentina, e Lobo et al. (2002, 2004) no Brasil.

Entre as espécies utilizadas para a remoção do excesso de nutrientes de efluentes, assim como para a produção de biomassa para fins de bioenergia como biodiesel, etanol e hidrogênio, ou para extração comercial, como pigmentos e lipídios, têm-se as clorofíceas (*Chlorella* spp., *Scenedesmus dimorphus*, *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis*) e algumas cianobactérias (*Spirulina* spp., *Arthrospira* spp.) (BOROWITZKA, 1999). Cultivos em grande escala de algas podem contribuir de forma significativa na redução da eutrofização resultante da ação antrópica. No final do século passado, os gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus* foram utilizados com êxito em estudos que visaram à remoção de nutrientes (TWIST et al., 1998).

Já em 2006, Aslan e Kapdan, em pesquisas empregando iluminação artificial constataram a remoção média de 21,2 mg L⁻¹ do nitrogênio amoniacal. A cultura removeu em média 7,7 mg L⁻¹ da concentração inicial de PO₄⁻¹, totalizando 78% de eficiência. Mulbry et al., (2008) investigaram a produtividade, o conteúdo de nutrientes e sua assimilação por algas verdes filamentosas, cultivadas em sistemas de biofilme (*Algae Turf Scrubber*®) com distintas concentrações de efluente de esterco bovino, bruto e anaerobicamente tratado. Houve crescimento microalgal, no entanto, com e sem suplementação de dióxido de carbono, não encontraram diferença significativa na produtividade das algas, bem como no conteúdo celular de nitrogênio e fósforo.

Dönmez et al. (2008) trabalharam com a remoção de corantes de indústria têxtil com a cianobactéria *Phormidium* sp., imobilizada com suporte a base de alginato de cálcio. Os resultados obtidos variaram de 50 a 88% de remoção do corante em todas as concentrações testadas. Hodaifa et al. (2008) investigaram o uso de efluente industrial, especificamente a água de enxágüe proveniente da centrifugação do óleo de oliva, para a produção de biomassa de *Scenedesmus obliquus*. Constataram que a maior síntese protéica durante a fase exponencial de crescimento foi de 3,7 mg L⁻¹ para 50% de água de enxágüe. A biomassa de lipídios, segundo os autores, foi dependente da porcentagem de água residual utilizada como meio nutritivo, alcançando os maiores teores de ácidos graxos monoinsaturados, poli-insaturados e ácidos graxos essenciais em 100% de água de enxágüe como meio de cultivo.

As características metabólicas das microalgas fazem com que estes microrganismos apresentem uma importante fonte de recursos a serem explorados. Associado ao metabolismo fotossintético, a respiração e a fixação de nitrogênio constituem importantes rotas metabólicas, passíveis de serem exploradas biotecnologicamente para diversos propósitos (SUBRAMANIAN, 2005; LOPES, 2007).

A produtividade por área destes organismos é muito elevada se comparada a processos convencionais de produção de nutrientes, constituindo uma importante reserva de proteínas e outras substâncias celulares que podem ser utilizadas, desde que bem exploradas tecnologicamente (LOPES, 2007; RICHMOND, 2004). De acordo com Brown et al. (1989), de 90 a 95% da biomassa seca das microalgas é constituída por proteínas, carboidratos, lipídios e minerais, no restante os ácidos nucleicos. As diferenças entre classe e condições de cultivo é que determinam as variações entre as proporções destes compostos.

Algumas espécies têm sido amplamente empregadas na aquíicultura, na alimentação humana e animal, na agricultura, no tratamento de águas residuais, na redução do dióxido de carbono da atmosfera, em substituição aos combustíveis fósseis e na obtenção de inúmeros compostos (GUILLARD, 1975; BOROWITZKA, 1993; MOLINA GRIMA et al., 1999; VÍLCHEZ et al., 1997).

A marcada influência das condições ambientais e nutricionais na morfologia e composição bioquímica celular das microalgas constitui uma vantagem, visto que dentro de certos limites é possível a obtenção de biomassa com composição desejada (FÁBREGAS, 1996; ARREDONDO-VEGA, 1995; OTERO et al., 1998). A possibilidade de associar o tratamento de resíduos com produção de insumos tem sido explorada visando à estabilização de compostos poluentes, com produção paralela de biomoléculas de interesse comercial, por exemplo, pigmentos, ácidos graxos,

fertilizantes, biocombustíveis como etanol, biodiesel, hidrogênio e metano (LOPES, 2007; CHISTI, 2007).

Entre os anos de 1978 e 1996, o escritório de desenvolvimento de combustíveis, do departamento de energia dos Estados Unidos, desenvolveu intensa pesquisa para obtenção de combustíveis renováveis a partir de algas. O programa conhecido como *The Aquatic Species Program* (ASP) teve como objetivo principal a produção de biodiesel a partir de algas com alto teor lipídico crescendo em tanques, utilizando CO₂ residual de termelétricas a base de carvão. Após quase duas décadas deste trabalho, muitos avanços foram feitos na ciência de manipulação do metabolismo de algas e na engenharia dos sistemas de produção de microalgas. O trabalho considerou três opções principais para produção de combustível: gás metano, etanol e biodiesel. A quarta opção é a direta combustão da biomassa de algas para produção de vapor ou eletricidade (SHEEHAN, 1998).

Os primeiros trabalhos no cenário comercial envolvendo a produção de microalgas datam da década de 60, onde espécies de *Chlorella* e *Spirulina* eram utilizadas para suplemento alimentar, *Dunaliella salina* para obtenção de β-caroteno, *Haematococcus pluvialis* para produção de astaxantina, entre outras (BERTOLDI et al., 2008). Há trabalhos que relataram que a ingestão de pequenas quantidades de biomassa microalgal (*Chlorella*, *Scenedesmus* e *Spirulina*) pode afetar de forma positiva a fisiologia de animais, apresentando resposta imune não-específica e auxiliando o sistema imunológico (BELAY et al., 1993). Ainda, no mesmo período, as pesquisas com microalgas focavam o tratamento de águas residuais, sua aplicação em programas espaciais de renovação atmosférica e fonte de alimento (BENEMANN, 1990).

Diversos trabalhos tratam do processamento termoquímico da biomassa de algas, como gaseificação (ELLIOTT & SEALOCK, 1999), liquefação (TSUKAHARA, & SAWAYAMA, 2005), pirólise (MIAO et al., 2004), hidrogenação (AMIN, 2009) e processamento bioquímico como a fermentação (BENTLY, et al., 2008) e transesterificação de ácidos graxos de microalgas (XU et al., 2006). Contudo, carece a maior exploração do potencial biotecnológico das microalgas, em processos de engenharia ambiental, visando à estabilização dos poluentes, com utilização paralela dos compostos formados.

Em 2011, testando o cultivo de *Desmodesmus subspicatus* com efluente urbano, em fotobiorreator tubular e com aporte de CO₂, Gressler (2011) avaliou a capacidade desta microalga na remoção de nutrientes e o potencial oleaginoso da biomassa resultante. Foram avaliados em especial Fósforo total e Nitrogênio amoniacal. Para o cultivo sem CO₂ a densidade celular máxima obtida foi $9,11 \times 10^6$ células mL⁻¹ e do peso seco de 234,00 mg L⁻¹. Os valores para o cultivo com CO₂ foram $42,48 \times 10^6$ células mL⁻¹

¹ e 1,277.44 mg L⁻¹, respectivamente. As diferenças na qualidade do efluente e na presença de CO₂ não resultou em perfis de lípidos diferentes. A presença de ácido palmítico e ácido oleico foi notável. O teor médio de óleo extraído foi de 18 e 12% para o cultivo com e sem aporte de CO₂, respectivamente.

Biodiesel de microalgas

A escolha da matéria-prima constitui um fator crítico no custo final do biodiesel. A matéria-prima representa 50 a 85% do custo total do biodiesel. Portanto, para minimizar o custo do biodiesel, é importante fazer uma avaliação da matéria-prima em relação ao rendimento, qualidade e aproveitamento dos subprodutos (SOARES, 2010; SONG et al., 2008).

Um ponto positivo para o uso de biodiesel de microalgas é a área necessária para a produção, como exemplo, para abastecer 50% do combustível utilizado pelo setor de transporte nos EUA utilizando o óleo de palma, que é derivado de uma planta com alto rendimento de óleo por hectare, seria necessário 24% do total da área agrícola disponível neste país. Em contraste, se for usado óleo de microalgas, cultivado em fotobiorreatores, seria necessário apenas 1 a 3% do total da área de cultivo (SOARES, 2010).

Outra vantagem do cultivo de algas é o fato do mesmo não requerer aplicação de pesticidas. Além disso, após a extração do óleo há a possibilidade do aproveitamento de co-produtos como proteínas e biomassa usada como fertilizante (SPOLAORE et al., 2006), ou ser fermentada para produzir etanol ou metano (HIRANO et al., 1998).

A composição bioquímica da biomassa de algas pode ser modulada por variações nas condições de crescimento, onde o teor e composição de óleo podem ser alterados significativamente (QIN, 2005). Sabe-se que o biodiesel de microalga apresenta composição em ácidos graxos (14 a 22 átomos de carbono) semelhante a dos óleos vegetais usados na produção de biodiesel (SOARES, 2010; MATA et al., 2009).

Além disso, cabe lembrar que o cultivo de algas não concorre na ocupação de áreas agriculturáveis, com outros vegetais, o que as exclui de imediato da polêmica biocombustíveis versus alimentos. É crescente o debate sobre a potencial produção de microalgas em conjunto com o tratamento de águas residuais, sendo que para alguns especialistas destaca-se como a área mais plausível de aplicação comercial em curto prazo (HARMELEN et al., 2006).

Destaca-se, ainda, que as microalgas assimilam o CO₂ do ar (cerca de 360 ppmv CO₂) e a maioria delas pode tolerar e utilizar níveis elevados de CO₂, tipicamente acima de 150 000 ppmv (BILANOVIC et al., 2009; CHIU et al., 2009). Então, em unidades comuns de produção, o CO₂ é introduzido no cultivo de uma ou outra forma de fontes

externas, como exaustão de indústrias (HSUEH et al., 2007; DOUCHA et al., 2005) ou como carbonatos solúveis (Na_2CO_3) (EMMA et al., 2000), entre outras. Isto qualifica ainda mais a proposta de uso de microalgas como processo de biorremediação e de produção de bioenergia, pois se associa a isso a captura de carbono da atmosfera.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam sinceros agradecimentos ao Programa de Pós Graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado, da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), pela oportunidade; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Mestrado concedida ao primeiro autor; ao grupo AES Sul – Uruguaiana pelo financiamento da pesquisa. Agradecimento especial ao Dr. Ivanildo Luiz de Mattos, da Universidade de Santiago de Chile (USACH) (*in memoriam*) como integrante do Programa de Manejo de Recursos Naturais e Tecnologia Ambiental (Programa MANTA, UNISC-USACH), pelas significativas considerações acerca do trabalho realizado, enquanto membro da Banca de julgamento da Dissertação de Mestrado do primeiro autor, realizada em 2011.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALDE, J. et al. *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. 1995. 210 f. Monografias, Universidade da Coruña, España, 1995.

AMIN S. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy Conversion and Management*. v. 50, p. 1834–1840. 2009.

ARREDONDO-VEGA, B. O. *Crecimiento autotrófico y mixotrófico de la Microalga marina Porphyridium cruentum*. 1995. 138 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Facultad de Farmácia, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 1995.

ASLAN, S.; KAPDAN, I. K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*. v. 8, p. 64–70. 2006.

BALECH, E. *Introducción al Fitoplancton Marino*. Buenos Aires: Editorial Universitaria de Buenos Aires, 212 p. 1977.

BELAY, A.; OTA, Y.; MIYAKAWA, K.; SHIMAMATSU, H. Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. *J. Appl. Phycol.*, v. 5, p. 235–41. 1993.

BENEMANN, J.R. The future of microalgae biotechnology. In: *Algal Biotechnology* (eds R.C. Cresswell, T.A.V. Rees & N. Shah), p. 317–37. Longman, London. 1990.

BENTLY J.; DERBY R. ETHANOL. FUEL CELLS: *Converging paths of opportunity*. RenewableFuelsAssociation.<http://www.ethanolrfa.org/objects/documents/129/rfa_fuel_cell_white_paper.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2008.

BERENGUEL, M.; RODRIGUEZ, F.; ACIÉN, F.G.; GARCIA, J.L. Model predictive control of pH in tubular photobioreactors. *Journal of Process Control*. n.14. p.377-387, 2004.

BERTOLDI, F.C.; SANT'ANNA, E.; ILVEIRA, J.L.B.; Revisão: Biotecnologia de microalgas. *B.CEPPA*, Curitiba v. 26, n. 1, p. 9-20 jan./jun. 2008.

BILANOVIC, D.; ANDARGATCHEW, A.; KROEGER, T.; SHELEF, G. Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations—response surface methodology analysis. *Energy Conversion and Management*;50(2): 262–7. 2009.

BOROWITZKA, M.A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*. n.70, p.313-321, 1999.

BOROWITZKA, M.A. Products from microalgae. *Infofish International*, v. 5, p.21-26. 1993.

BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; GARLAND, C. D. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review. *Hobart: CSIRO Marine Laboratories* (Australia), Report 205, 1989, 44 p.

BRUNO. J. J. Edible Microalgae: a review of the health research, *Pacifica: Center for Nutritional Psychology*, v. 3. p. 56. 2001.

CERTIK, M.; SHIMIZU, S. Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v.87, n.1, p.1-14. 1999.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. v.25. p.294-306, 2007.
CHISTI, Y. Microalgae: our marine forests. In: RICHMOND, A. *Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science. Biotechnology Advances, 2004. p. 565-567.

CHIU, SHENG-YI; KAO, CHIEN-YA; TSAI, MING-TA; ONG, SEON-CHIN; CHEN, CHIUN-HSUN; LIN, CHIH-SHENG. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 833-838, 2009.

DARLEY, W. M. Algal Biology: a physical approach. In: WILKINSON, J. F. *Basic Microbiology*. v. 9, Blackwell Scientific Publications, 1982. p. 30-52.

DERNER, Roberto Bianchini. *Efeito de fontes de carbono no crescimento e na composição bioquímica das microalgas Chaetoceros muelleri e Thalassiosira fluviatilis, com ênfase no teor de ácidos graxos poli-insaturados*. 2006. 158 f. Tese (Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos– Mestrado e Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

DINIS, M. A.; MONTEIRO, A.; BOAVENTURA, R. Tratamento de águas residuais: o papel das microalgas. Edições Universidade Fernando Pessoa: *Revista da faculdade de ciência e tecnologia*. Porto. Issn 1646-0499. 1, p. 41-54. 2004.

DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LI VANSKY , K. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*, v. 17(5), p. 403–12. 2005.

DOUMIT, C. N.; PINOTTI, M. H. Exopolissacarídeos de Cianobactérias. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, Londrina, v. 25, n. 1, p. 43-52, jan./jun. 2004.

DÖNMEZ , G.; ERTUĞRUL , S.; BAKIR, M. Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium* sp. *Ecological engineering*. v. 3 2. p. 244–248. 2008.

ELLIOTT, D.C., and SEALOCK, L.J. 1999. Chemical processing in high-pressure aqueous environments: Low temperature catalytic gasification. *Trans IChemE* 74: 563–6.

EMMA, H. I.; COLMAN, B.; ESPIE, G. S.; LUBIAN, L. M. Active transport of CO₂ by three species of marine microalgae. *Journal of Phycology*, v. 36(2), p. 314–20. 2000.

FÁBREGAS, J.; PATINO, J.; MORALES E. D.; CORDERO, B.; OTERO, A. Optimal renewal rate and nutrient concentration for the production of the marine microalgae *Phaeodactylum tricornutum* in semicontinuous cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 62, p. 266-268, 1996.

GOLDMAN, J.C. Physiological aspects in algal mass cultures. In: *Algal Biomass*. p. 343–59, Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press. 1980.

GOMEZ, N., LICURSI, M. The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35: 173-181. 2001.

GRESSLER, Pablo. *Avaliação da eficiência de *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat) *E.hegewald* & *A.Schmidt* (Chlorophyceae) cultivada em fotobiorreator tubular com efluente da ETE-UNISC, visando biorremediação e obtenção de energia.*130f. Dissertação (Curso de Pós Graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado). Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC. 2011.

GROBBELAAR, J.U. Algal biotechnology: real opportunities for Africa. *South African Journal of Botany*, v.70, n.1, p.140-144. 2004.

GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: *Culture of Marine Invertebrates Animals*. Plenum Publishing, New York, p. 29-60, 1975.

HARMELEN, VAN T.; OONK H. Microalgae biofixation processes: applications and potential contributions to greenhouse gas mitigation options. Apeldoorn, The Netherlands: INTERNATIONAL NETWORK ON BIOFIXATION OF CO₂ AND GREENHOUSE GAS ABATEMENT WITH MICROALGAE; 2006.

HARRIS, G.P. *Phytoplankton ecology*. Chapman & Hall, New York. 1988.

HEALEY, F.P. Phosphate. In: *The biology of cyanobacteria*. Blackwell Scientific, Oxford, UK. 1982.

HIRANO, A.; HON-NAMI, K.; KUNITO, S.; HADA, M.; OGUSHI, Y. Temperature effect on continuous gasification of microalgal biomass: theoretical yield of methanol production and its energy balance. *Catalysis Today*, v. 45 (1–4), p. 399–404. 1998.

HODAIFA, GASSAN; MARTINEZ, M. E.; SÁNCHEZ, S. Use of industrial wastewater from olive-oil extraction for biomass production of *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*. v. 99, p. 1111-1117. 2008.

HSUEH, H. T.; CHU, H; YU, S. T. A batch study on the bio-fixation of carbon dioxide in the absorbed solution from a chemical wet scrubber by hot spring and marine algae. *Chemosphere*. v. 66 (5) p.878–86. 2007.

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

KIRK, E. A.; BEHRENS, P. W. Commercial developments in microalgal Biotechnology. *Journal of Phycology* n. 35, p. 215–226. 1999.

LALIBERTE, G.; PROULX, D.; DE PAUW. N.; DE LA NÔUE, J. *Phycological Perspectives in Water Pollution*. New York. Springer-Verlag, 1992.

LEMAN, J. Oleaginous microorganisms: an assessment of the potencial. *Advances in Applied Microbiology*, v. 51, p. 195-243. 1997.

LOBO, E. A.; CALLEGARO, V. L. M.; BENDER, E. P. *Utilização de algas diatomáceas epilíticas como indicadoras da qualidade da água em rios e arroios da Região Hidrográfica do Guaíba, RS, Brasil*. 1. ed. Santa Cruz do Sul: Edunisc, 127 p. 2002.

LOBO, E.A.; CALLEGARO, V. L. M.; HERMANY, G.; BES, D.; WETZEL, C. E.; OLIVEIRA, M. A. Use of epilithic diatoms as bioindicator from lotic systems in southern Brazil, with special emphasis on eutrophication. *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 16(1), p. 25-40, 2004.

LOPES, E. J. *Seqüestro de dióxido de carbono em fotobiorreatores*. 2007. Tese (Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química-Mestrado e Doutorado) – Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

LOURENÇO, S. O.; MARQUES Jr, A. N. Produção primária marinha. In: PEREIRA, R. G.; SOARES-GOMES, A. (orgs.) *Biologia Marinha*. Rio de Janeiro: Interciência, p. 195-227. 2002.

LOURENÇO, S. O. *Cultivo de microalgas marinhas – princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa, 2006.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, p. 217-232, 2009.

MIAO X.; WU Q.; YANG C. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*; v. 71, p. 855–63. 2004.

MIAO X.; WU Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresource Technology* n. 97, p. 841–846. 2006.

MOLINA GRIMA, E. et al. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scale up. *Journal of Biotechnology*. n. 70. p. 231-247, 1999.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Bioprocessos para remoção de dióxido de carbono e óxido de nitrogênio por microalgas visando a utilização de gases gerados durante a combustão do carvão. *Quim. Nova*, v.31, n. 5, p.1038-1042. 2008.

MULBRY, W.; et al. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: Algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. *Bioresource Technology*. v. 99, p. 8137–8142. 2008.

MURATA, N. Low-temperature effects on cyanobacterial membranes. *J. Bio-energ. Biomembr*, v. 21, p. 61–75. 1989.

NISHIDA, I. & MURATA, N. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Annu. Rev. Plant Physiol., Plant Mol. Biol.*, v. 47, p. 541–68. 1996.

NORTON, T. A.; MELKONIAN, M.; ANDERSEN, R. A. Algal biodiversity. *Phycologia*, n. 35, p. 308–326, 1996.

NURDOGAN, Y.; OSWALD, W.J. Enhanced nutrient removal in high rate ponds. *Water Science Technology*. n. 31. p. 31-43, 1995.

OSWALD, W.J. Micro-algae and wastewater treatment. In: Borowitzka, M. & Borowitzka, L. *Micro-algal Biotechnology*. 2. ed., Sydney, 477 pp., 1988.

OSWALD, W.J.; GOTAAS, H.B. Photosynthesis in sewage treatment. *Trans. Am. Soc. Civ. Eng.* v. 122, p. 73-105. 1957.

OTERO, A.; DOMÍNGUEZ, A.; LAMELA, T.; GARCIA, D.; FÁBREGAS, J. Steady-states semicontinuous cultures of a marine diatom: Effect of saturating nutrient concentrations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 227, p. 23-34, 1998.

PROULX, D.; DE LA NÖUE, J. *Removal of macronutrients from wastewater by immobilized algae. Bioreactor Immobilized Enzymes and Cells: Fundamentals and Applications*. (Moo-Young, M., Ed.). Elsevier Applied Science, London, 301-310. 1988.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 65, p. 635–648, 2004.

QIN J. *Bio-hydrocarbons from algae—impacts of temperature, light and salinity on algae growth*. Barton, Australia: Rural Industries Research and Development Corporation; 2005.

RAVEN, J. A. Limits to growth. In: BOROWITZKA, M. A.; BOROWITZKA, L. J. *Microalgal Biotechnology*, Cambridge: Cambridge University, p. 331-356. 1988.

RHEE, G.Y. Effects of environmental factors and their interactions on phyto-plankton growth. *Adv. Microb. Ecol.*, v. 6, p. 33–74. 1982.

RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004.

ROSENBERG J. N.; OYLER, G. A.; WILKINSON, L.; BETENBAUGH M. J. A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Current Opinion in Biotechnology*, n.19, p. 430–436. 2008.

SCHENK PEER M.; SKYE R.; HALL T.; STEPHENS E.; MARX U.C.; MUSSGNUG J. H.; POSTEN C.; KRUSE O.; HANKAMER B. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *Bioenerg. Res.*, p. 24. 2008.

SHEEHAN, J. et al. *A Look Back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program: biodiesel from algae*. US Department of Energy's, Office of Fuels development. NREL/TP-580-24190. 328 p. 1998.

SOARES, Diniara. *Avaliação do crescimento celular e da produtividade de lipídeos de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo*. 2010. 107 f. Tese (Curso de Pós-Graduação em Ciências: Bioquímica – Mestrado e Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

SONG, D.; FU, J.; SHI, D. Exploitation of oil-bearing microalgae for biodiesel, *Chinese journal of biotechnology*, v. 24, p. 341-348, 2008.

SPOLAORE, P.; CASSAN, C. J.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 101, p.87-96, 2006.

SUBRAMANIAN, G.; THAJUDDIN, N. Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology. *Current Science*. v.89. n.1. p.47-57, 2005.

SUH, I. S.; LEE, C.G. Photobioreactor Engineering: Design and Performance. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, v. 8, p. 313-321, 2003.

TALBOT, P.; DE LA NÖUE. J. *Algal Biotechnology* (Staedler, T., Mollion. J., Verdus, M. C., Karamanos, Y., Morvan, H., and Christiaen, D., Eds.). Elsevier, London, 1988.

TAM, N. F. Y.; WONG, Y. S.; SIMPSON, C. G. Removal of Copper and Immobilized Microalga, *Chlorella Vulgaris*. In: Wong, Y. S. e Tam, N.F.Y. *Wastewater Treatment with Algae*. Springer-Verlag, v. 2, p. 17-36. 1998.

THOMPSON, P.A.; GUO, M.; HARRISON P.J. Effects of temperature on the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton. *J. Phycol.*, v.28, p. 481–88. 1992.

TOMASELLI, L. The microalgal cell. In: RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004.

TRAINOR, F.R. *Algae as Ecological Indicators*; Academic Press: UK, 1983.

TSUKAHARA K.; SAWAYAMA S. Liquid fuel production using microalgae. *Jpn Petrol Inst*; 48(5):251–9. 2005.

TWIST, H.; EDWARDS, A. C.; COD, G. A. Algal Growth responses to waters of Contrasting Tributaries of the River Dee, North-East Scotland. In: *Water Research*, v. 32, p.2471-2479. 1998.

TZOVENIS, I.; DE PAUW, N; SORGELOOS, P. Optimisation of T-ISO biomassproduction rich in essential fatty acids. II. Effect of different light regimes on the production of fatty acids. *Aquaculture*, v. 216, p. 223-242, 2003.

UMBLE, A. K.; KETCHUM, L. H. Jr. A strategy for coupling municipal wastewater treatment using the sequencing batch reactor with effluent nutrient recovery through aquaculture. *Wat. Sci. Tech.*, v. 35, n. 1, p. 177 – 184. 1997.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. *Quim. Nova*, v. 27, n. 1, 139-145, 2004.

VÍLCHEZ, C. et al. Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. n. 20, p. 562-572. 1997.

WIKFORS, G. H. Altering growth and gross chemical composition of two microalgal molluscan food species by varying nitrate and phosphate. *Aquaculture*, v. 59, p. 1-14, 1986.

WILLIAMS, P. J. le. B. Biofuel: microalgae cut the social and ecological costs. *NATURE*. v. 450; 2007.

XU, H.; MIAO, X.; WU, Q. High quality biodiesel production from microalgae by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of Biotechnology*. n.126. p.499–507, 2006.

YONGMANITCHAI, W.; WARD, O. P. Screening of algae for potential alternative sources of eicosapentaenoic acid. *Phytochemistry*, v. 30, n. 9, p. 2963-2967, 1991.