

ORGANIZADORAS:

Ihana Aguiar Severo

Tatiele Casagrande do Nascimento

Mariane Bittencourt Fagundes

Microalgas

POTENCIAIS APLICAÇÕES E DESAFIOS



Microalgas: potenciais aplicações e desafios

Ihana Aguiar Severo
Tatiele Casagrande do Nascimento
Mariane Bittencourt Fagundes
(Orgs.)

Canoas

2021



Microalgas: potenciais aplicações e desafios

© 2021 Mérida Publishers

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1>

Organizadoras

Ihana Aguiar Severo

Tatiele Casagrande do Nascimento

Mariane Bittencourt Fagundes

Adaptação da capa e desenho gráfico

Luis Miguel Guzmán

Larissa Pereira

Foto da capa

500px.com

Fotos da contracapa

Acervo pessoal do Prof. Dr. André Bellin Mariano

Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de

Energia Autossustentável (NPDEAS)



Canoas - RS - Brasil

contact@meridapublishers.com

www.meridapublishers.com

Todos os direitos autorais pertencem a Mérida Publishers. A reprodução total ou parcial dos trabalhos publicados, é permitida desde que sejam atribuídos créditos aos autores.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

M626 Microalgas [livro eletrônico] : potenciais aplicações e desafios / Organizadoras Ihana Aguiar Severo, Tatiele Casagrande do Nascimento, Mariane Bittencourt Fagundes. – Canoas, RS: Mérida Publishers, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-994457-8-1

1. Algas marinhas – Cultura e meios de cultura. 2. Biomassa. I. Severo, Ihana Aguiar. II. Nascimento, Tatiele Casagrande do. III. Fagundes, Mariane Bittencourt.

CDD 579.8

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Prefácio

As “microalgas” são a resposta, não importa a pergunta? Estes promissores microrganismos podem abordar consideravelmente onexo água-energia-alimento nos próximos anos. Seu cultivo associado a reciclagem de nutrientes e materiais representa uma oportunidade substancial como parte de um sistema chamado de "bioeconomia circular".

Devido a sua diversidade evolutiva, as microalgas são uma fonte emergente e sustentável uma ampla variedade de compostos para muitas aplicações, o que as tornam seres atrativos para a bioprospecção de novos insumos, que variam desde usos na alimentação humana, ração animal, cosméticos, fármacos, biofertilizantes, químicos, até a produção de energia. Na atualidade, estes microrganismos vêm sendo explorados visando à manufatura de *commodities*, além de produtos de alto valor agregado, como proteínas, óleos, polissacarídeos, ácidos graxos, pigmentos e outros compostos bioativos. Em termos de biorremediação, as microalgas têm um papel importante a desempenhar, particularmente no tratamento de águas residuais e gases de efeito estufa.

Todas essas possibilidades ocorrem porque seus rendimentos por área podem ser de uma magnitude superior em comparação a outras culturas, enquanto seu cultivo não compete com terras agriculturáveis para a produção de alimentos ou biocombustíveis e recursos de água doce. Dado o notável potencial das microalgas, por que não estão presentes em nossa vida cotidiana?

Acontece que ainda existem muitos desafios a serem superados no cultivo, colheita e processamento de sua biomassa. Alguns deles incluem o aumento da produtividade, secagem e extração com eficiência energética, escalonamento, aceitação social e aspectos regulatórios. O caminho à frente pode até ser longo, mas se essas questões forem consideradas em conjunto, podem representar etapas significativamente avançadas.

Portanto, é oportuno fornecer informações para abordar os entraves que atualmente dificultam a indústria de microalgas de se tornar competitiva no mercado global. Diante desse contexto, o presente livro compreende 10 capítulos que apresentam aos leitores tópicos relevantes sobre as potenciais aplicações e desafios das microalgas.

Expressamos nossos sinceros agradecimentos a todos os autores que forneceram contribuições valiosas incluídas neste projeto. Esperamos que essas informações possam servir como futuros *insights* de pesquisa e desenvolvimento para discentes e profissionais na área de biotecnologia microalgal

Dr.^a Ihana Aguiar Severo

Dr.^a Tatiele Casagrande do Nascimento

Dr.^a Mariane Bittencourt Fagundes

Índice

CAPÍTULO 1	8
Produção de biomassa microalgal em escala: desafios e oportunidades	
Beatriz Santos, Diego de Oliveira Corrêa, Nelson Fernando Herculano Selesu, Vanessa Merlo Kava, André Bellin Mariano, José Viriato Coelho Vargas	
CAPÍTULO 2	45
Potencial das microalgas na indústria farmacêutica	
Juliana Mesadri, Roger Wagner, Mariane Bittencourt Fagundes	
CAPÍTULO 3	63
Microalgas na agricultura moderna: Utilização do extrato de <i>Desmodesmus subspicatus</i> na propagação in vitro da orquídea <i>Cattleya warneri</i>	
Diego de Oliveira Corrêa, Beatriz Santos, Luciana Lopes Fortes Ribas, Érika Amano, Rogério Mamoru Suzuki, Miguel Daniel Nosedá	
CAPÍTULO 4	87
Aplicação de sistemas baseados em microalgas para controle de odores em estações de tratamento de águas residuais: abordagens, avanços e perspectivas	
Karem Rodrigues Vieira, Pricila Nass Pinheiro, Tatiele Casagrande do Nascimento	
CAPÍTULO 5	114
Tratamento de águas residuárias utilizando microalgas/bactérias	
Gustavo H. R. da Silva, Caroline M. Erba Pompei, Hugo Renan Bolzani, Letícia Alves Martins de Carvalho, Luiza Maria Fernandes	
CAPÍTULO 6	151
Microalgas como agentes de biorremediação ambiental	
Dhyogo Mileo Taher, Beatriz Jacob-Furlan, Valeria Cristina Pereira Antezana, Laura Sebben Galarce, Rafael Xisto Vieira Filho, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano	

CAPÍTULO 7 170

Imobilização de *Tetrademus obliquus* em matriz de alginato para biorremediação de efluentes

Beatriz Jacob-Furlan, Paulo Alexandre Silveira da Silva, Gilvana Scoculi de Lira, Ihana Aguiar Severo, Rafael Silva Ribeiro Gonçalves, Lauber de Souza Martins, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano

CAPÍTULO 8 185

Matrizes poliméricas para imobilização de microalgas aplicadas ao tratamento de efluentes: Uma análise de prospecção tecnológica de patentes

Paulo Alexandre Silveira da Silva, Beatriz Jacob-Furlan, Rafael Silva Ribeiro Gonçalves, Pedro Henrique Siqueira Zatta, Gilvana Scoculi de Lira, Ihana Aguiar Severo, André Bellin Mariano

CAPÍTULO 9 200

Análise de ciclo de vida de processos e produtos baseados em microalgas

Gilvana Scoculi de Lira, Beatriz Jacob-Furlan, Rafael Silva Ribeiro Gonçalves, Paulo Alexandre Silveira da Silva, Michelle Aparecida Coelho Moreira, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano

CAPÍTULO 10 213

Negócios em biotecnologia de microalgas: desenvolvimento de *startups*

Flávio Júnior Santiago Silva, Erick Cordeiro Kollross, Emeli Naisa Krebs, Valeria Cristina Pereira Antezana, Ihana Aguiar Severo, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano

Produção de biomassa microalgal em escala: desafios e oportunidades

Beatriz Santos, Diego de Oliveira Corrêa, Nelson Fernando Herculano Selesu, Vanessa Merlo Kava, André Bellin Mariano, José Viriato Coelho Vargas

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c1>

Resumo

O interesse em novas tecnologias que viabilizem a produção de biomassa de microalgas tem ganhado espaço no meio acadêmico e industrial, sobretudo devido às inúmeras possibilidades de exploração dessa matéria prima. O reflexo da crescente atenção direcionada às microalgas é o surgimento de um novo nicho biotecnológico, que tem como um dos principais desafios o escalonamento da produção de biomassa, ao mesmo tempo em que amplia as possibilidades de exploração desses microrganismos. Dentre os principais desafios encontrados na produção de microalgas em larga escala é possível destacar os custos de desenvolvimento, construção e operação de fotobiorreatores; o volume de água empregada nos cultivos; o suprimento de aeração com ou sem suplementação de CO₂; a formulação de meio de cultura com todos os nutrientes necessários; e os processos de recuperação da biomassa produzida. Associadas aos desafios do escalonamento, surgem oportunidades de novos processos a serem explorados, como o tratamento de emissões e efluentes, que permitem a redução dos custos associados ao consumo de água e suplementação do meio com fontes de carbono e outros nutrientes. Entender esses desafios e oportunidades permite delinear estratégias mais efetivas para produção de biomassa microalgal em escala industrial. Neste capítulo, apresenta-se brevemente uma revisão sobre os principais desafios e oportunidades encontrados nos cultivos de microalgas em larga escala.

Palavras-chave: Biomassa, efluentes, emissões, escalonamento, fotobiorreatores, microalgas.

1. Introdução

O interesse em novas tecnologias que viabilizem a produção de biomassa de microalgas tem ganhado espaço no meio acadêmico e industrial na última década, sobretudo devido às inúmeras possibilidades de exploração dessa matéria-prima, quer seja para geração de biocombustíveis como o biodiesel, o etanol ou mesmo o hidrogênio, ou ainda pela composição da biomassa rica em proteínas, pigmentos e moléculas de interesse para as áreas de nutrição humana, suplementação animal e variados usos biotecnológicos. Além de sua utilização para fins comerciais, os cultivos de microalgas são reconhecidos como importantes ferramentas para o estudo de diversos fenômenos ecológicos, fisiológicos, bioquímicos e genéticos, sendo fundamentais para obtenção de informação relacionada à ciência básica e estudo destes microrganismos (HLAVOVA; TUROCZY; BISOVA, 2015).

Pesquisas com microalgas têm sido desenvolvidas para diferentes aplicações comerciais. Como microrganismos fotossintetizantes, as microalgas contêm pigmentos que podem ser usados para fins alimentares e cosméticos, podem ainda ser usadas na indústria farmacêutica, uma vez que algumas espécies produzem compostos bioativos, tais como os antioxidantes. Além disso, a biomassa das microalgas é empregada como suplemento nutricional para o consumo humano, devido à presença de proteínas, vitaminas, polissacarídeos, ácidos graxos poli-insaturados dentre outros nutrientes (DOLGANYUK *et al.*, 2020).

O reflexo da crescente atenção direcionada às microalgas é o surgimento de um novo nicho tecnológico que possui, como uma das maiores potencialidades a ser explorada, a possibilidade de integração entre sistemas de cultivo para produção de biomassa e o tratamento de emissões diversas, com a principal vantagem de aumentar a produtividade dos sistemas, aliada ao aspecto ambiental da redução de poluentes na atmosfera, como o dióxido de carbono (CO₂) e os óxidos de nitrogênio (NO_x). Como seres fotossintetizantes, as microalgas possuem a capacidade de converter biologicamente o CO₂ presente em emissões diversas em biomassa, apresentando como resultado desse processo a produção de oxigênio (O₂) (MEHARIYA *et al.*, 2021).

Apesar do desenvolvimento de novas tecnologias para produção de biomassa de microalgas os cultivos ainda esbarram em limitações tecnológicas,

especialmente relacionadas à manutenção e viabilidade das condições da cultura. A interação entre fatores físicos, químicos e biológicos influencia diretamente no cultivo de microalgas, podendo promover ou inibir seu crescimento. Os fatores biológicos estão associados ao metabolismo celular e a presença de contaminantes no sistema, enquanto os fatores físicos e químicos estão relacionados aos efeitos provocados pela luz, temperatura, pH e disponibilidade de fontes de carbono e outros nutrientes (MORENO-GARCIA *et al.*, 2017).

Compreender as especificidades dos cultivos de microalgas em larga escala permite contornar os desafios e identificar as oportunidades dessa tecnologia, tais como o uso da biomassa para obtenção de bioprodutos e a integração de diferentes processos dentro do conceito de biorrefinaria. O objetivo deste capítulo é trazer as principais atualizações da literatura sobre cultivos em larga escala, bem como a importância da biorrefinaria que permite associar a alta produtividade de compostos de interesse comercial com o tratamento de emissões e efluentes.

2. Sistemas de cultivo de microalgas em larga escala

Os cultivos de microalgas são comumente realizados de duas maneiras: sistemas abertos, tais como tanques ou lagoas, ou ainda em sistemas fechados como fotobiorreatores (ASSUNÇÃO e MALCATA, 2020). De modo geral, a utilização de fotobiorreatores para o cultivo de microalgas possui algumas vantagens, dentre as quais é possível destacar o maior controle das condições, uma vez que o sistema é fechado e não há contato com o ambiente externo, reduzindo a probabilidade de contaminação por organismos diferentes dos cultivados e a redução da perda excessiva por evaporação, o que é agravado em dias quentes e secos nos cultivos abertos (XIAOGANG *et al.*, 2020). Fotobiorreatores possuem ainda elevada eficiência na produção de biomassa quando utilizada injeção de CO₂ no meio, potencializando a multiplicação celular. O avanço da produção industrial associada com exploração do potencial das microalgas passa pelo desenvolvimento de sistemas de cultivo que sejam capazes reunir estas características. Ademais, a necessidade de desenvolvimento também se faz presente no setor acadêmico, uma vez que o aprimoramento de sistemas de cultivo em larga escala permite a realização de

estudos que aproximem a realidade da bancada com a industrial, favorecendo assim o escalonamento dos processos investigados.

Tanques abertos que simulam o habitat natural das microalgas são os mais utilizados devido ao baixo custo de construção e manutenção. Três principais modelos têm sido usados na produção em larga escala, os tanques de corrida, as lagoas circulares e os tanques inclinados (BOROWITZKA, 1999). O gasto com a construção dos tanques de corrida é relativamente baixo, já que o sistema consiste numa vala rasa escavada no chão revestido com plástico, sendo que a agitação é promovida por longas pás (Figura 1). O nível da água deve estar entre 15 cm e 50 cm, valores inferiores ou superiores podem prejudicar o fluxo e diminuir a turbulência. Nesse sistema, o baixo nível de água requer grandes áreas para cultivo, com cerca de 150 L m⁻², além disso a concentração celular dificilmente ultrapassa 600 mg L⁻¹, facilitando contaminações e aumentando o custo de coleta da biomassa. Outro problema é a perda excessiva por evaporação, que é agravada em dias quentes e secos (TREDICI, 2004).



Figura 1. Sistemas abertos para cultivo de microalgas. Fonte: Imagem superior esquerda: Cyanotech Corp. <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/18/AerialCyanotechW.jpg>. Imagem superior direita: JanB46. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8a/Microalgenkwekerij_te_Heure_bij_Borculo.jpg. Imagem inferior: Ivan Castilho. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5a/Algal_open_pond_design.jpg.

Os sistemas abertos também podem ser definidos como fotobiorreatores, uma vez que são reatores em que organismos fotossintetizantes crescem e realizam suas reações biológicas, no entanto, o termo fotobiorreator é comumente empregado para designar os sistemas fechados. Estes podem ser definidos como sistemas de cultura para organismos autotróficos, no qual a luz incide indiretamente sobre a superfície da cultura, passando previamente através de uma superfície translúcida. Sendo assim, fotobiorreatores limitam a troca direta de gases com o meio externo, reduzindo contaminações entre o cultivo celular e a atmosfera (TREDICI, 2004). Além disso, fotobiorreatores ocupam uma área muito menor quando comparados aos sistemas abertos, podendo ser instalado em áreas urbanas ou solos impróprios para a agricultura. A Figura 2 apresenta três diferentes fotobiorreatores.



Figura 2. Modelos de fotobiorreatores para cultivo de microalgas. Fonte: Imagem da esquerda e inferior direita acervo da (NPDEAS). Imagem superior direita: IGV Biotech. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/ba/Photobioreactor_PBR_4000_G_IGV_Biotech.jpg.

Apesar de apresentar melhor controle das condições de cultivo, os fotobiorreatores são financeiramente mais onerosos, demandando maior investimento tecnológico no desenvolvimento de novos arranjos estruturais, materiais construtivos e controle das operações (CHISTI, 2013; GÓMEZ-PÉREZ *et al.*, 2015). Dessa maneira, a viabilidade dos cultivos em escala necessita estar associada à exploração dos potenciais usos dessa tecnologia, em suas diferentes perspectivas.

3. Desafios da produção em escala

A interação entre fatores físicos, químicos e biológicos influencia diretamente no cultivo de microalgas, podendo promover ou inibir seu crescimento. Os fatores biológicos estão associados ao metabolismo celular e à presença de contaminantes no sistema, enquanto os fatores físicos e químicos estão relacionados aos efeitos provocados pela luz, temperatura, pH e disponibilidade de fontes de carbono e nutrientes (RAVEN, 1990; RICHMOND, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2006; DERNER *et al.*, 2006).

3.1. Fatores físicos e químicos: Luz, temperatura, fonte de carbono e aeração

Dentre os fatores físicos, talvez o mais importante em cultivos fotoautotróficos seja a iluminação, uma vez que a intensidade luminosa está diretamente relacionada à etapa fotoquímica da fotossíntese, quando ocorre a absorção da luz através de pigmentos como a clorofila, síntese de trifosfato de adenosina (ATP) e a fotólise da água (EBERHARD; FINAZZI; WOLLMAN, 2008). Microalgas são seres fotossintetizantes, de modo que a presença de luz é de suma importância para a manutenção do crescimento celular (GONÇALVES; SIMÕES; PIRES, 2014). Diferentes intensidades luminosas podem promover a produção de diferentes compostos de interesse. Por exemplo, altas intensidades de luz podem induzir o acúmulo de pigmentos, como o β -caroteno em *Dunaliella salina* e astaxantina em *Haematococcus pluvialis*. Entretanto, algumas espécies podem não suportar altas intensidades, podendo sofrer com o fenômeno de fotoinibição (LEVIN *et al.*, 2021), um complexo conjunto de processos moleculares, definidos como a inibição da fotossíntese pelo excesso de luz.

Além da luminosidade, a temperatura possui grande importância nos cultivos de microalgas, uma vez que estas apresentam taxa máxima de crescimento relacionada a uma determinada faixa de temperatura, variando de acordo com a espécie e suas adaptações fisiológicas ao meio no qual vive (NWOBA *et al.*, 2019; RANGLOVÁ *et al.*, 2019). De maneira geral, abaixo ou acima destes valores ocorre redução na velocidade de crescimento, alterações metabólicas, fisiológicas e/ou morte celular.

A temperatura ideal para os cultivos de microalgas, de modo geral, está entre 20°C e 24°C, embora possa variar em função da espécie utilizada. Para

algumas espécies a elevação da temperatura pode diminuir a quantidade de ácidos graxos insaturados enquanto aumenta a quantidade de ácidos graxos saturados (THOMPSON; GUO; RENAUD, 2004;). Este fator pode contribuir para a produção de biodiesel de melhor qualidade, elevando o número de cetano e aumentando a estabilidade oxidativa do combustível.

Cultivos em escala ocorrem, geralmente, em ambientes externos, portanto, as microalgas experimentam diferentes quantidades de luz e temperatura ao longo do ano. Padronizar os parâmetros de cultivos pode ser um desafio dependendo da espécie utilizada, por esse motivo, a escolha da microalga deve ser muito bem avaliada. Além disso, estratégias de cultivo e o uso da engenharia pode auxiliar em cultivos em larga escala. Um dessas estratégias é optar por espécies capazes de consumir carbono orgânico exógeno.

Embora microalgas sejam organismos fotossintetizantes, sendo algumas delas autótrofas estritas, existem espécies capazes de crescer na total ausência de luz, desde que haja um substrato orgânico (CHEN; JOHNS, 1996). Microalgas podem assimilar uma grande variedade de carbono orgânico, como glucose, acetato e glicerol (LIANG, SARKANY; CUI, 2009; DEVI, SUBHASH; MOHAN, 2012), frutose, lactose, galactose e manose (LIU *et al.*, 2010) e sacarose (CHENG *et al.*, 2009). Entretanto, o uso de carbono orgânico pode encarecer o processo, de modo que pesquisadores têm estudado diversos resíduos ricos em carbono orgânico para o uso em cultivos heterotróficos. Xu, Miao e Wu (2006) utilizaram pó de milho hidrolisado como fonte de carbono orgânico e conseguiram $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ de biomassa seca e $932 \text{ mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ de lipídeos. Outros resíduos têm sido testados, como bagaço da cana hidrolisado, resíduo doméstico (DEVI, SUBHASH; MOHAN, 2012), peixe processado (QUEIROZ *et al.*, 2013) e efluente de avicultura (LOWREY; YILDIZ, 2014).

Por não necessitar de luz, é possível manter cultivos heterotróficos com grandes volumes, conseqüentemente, o aumento de escala ocorre com maior facilidade (LI; XU; WU, 2007). Por outro lado, alguns compostos de alto valor agregado são produzidos em maiores concentrações apenas na presença de luz, por exemplo, os carotenoides. Nesse sentido, cultivo em condição mixotrófica pode ser uma alternativa mais atraente. Cultivos mixotróficos possuem a vantagem de utilizar eficientemente a luz disponível, carbono

inorgânico (geralmente CO₂) e carbono orgânico. Esse arranjo resulta em maiores rendimentos de células por unidade de energia de entrada (YANG; HUA; SHIMIZU, 2000).

Outro fator físico relevante para a máxima geração de biomassa é a aeração. Em cultivos densos ou em grandes volumes é necessária a utilização de sistemas de aeração que proporcionem o borbulhamento de ar ou mistura de gases no interior dos cultivos. Esse processo de mistura do meio possibilita às células melhor aproveitamento da luz, proporciona a homogeneização de nutrientes e favorece a troca gasosa, como consequência acaba por aumentar a produtividade de biomassa (UGWU; AOYAGI; UCHIYAMA, 2008). Um fator que possui fundamental importância para o crescimento das microalgas em cultivo é a concentração de CO₂ injetado nos sistemas, sendo comumente empregado o uso de fontes diversas para aumentar a produção de biomassa (YANG *et al.*, 2017).

Na literatura científica são relatados resultados de produção de biomassa de microalgas do gênero *Scenedesmus* em cultivo autotrófico com adição de CO₂ em concentrações variando entre 2 e 20%, alcançando resultados de geração de biomassa significativamente superior ao uso do ar ambiente (BASU *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2020; RODAS-ZULUAGA *et al.*, 2021). Além de dados da utilização de CO₂ puro aos cultivos, é possível encontrar resultados da adição de emissões diversas, desde a utilização de gases originários da combustão de diesel, carvão ou resíduos sólidos (MAEDA *et al.*, 1995; LEE *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2008; JIANG *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2019).

A utilização de emissões depende fortemente do projeto de desenvolvimento dos fotobiorreatores para permitir que as microalgas façam o uso eficaz das emissões e iluminação sem comprometer a produção de biomassa (ZIMMERMAN *et al.*, 2011; NWOBA *et al.*, 2019). Há diversos modelos de fotobiorreatores, porém, os mais comuns encontrados na literatura são três: tubular, tipo *airlift* e placa plana. Desses, os fotobiorreatores do tipo *airlift* são os mais eficientes para mitigação do CO₂, uma vez que a circulação do cultivo é promovida pela injeção de gás na parte inferior do sistema (ZIMMERMAN *et al.*, 2011).

A produção de biomassa em larga escala pode ser bastante desafiadora, o alto custo dos nutrientes, assim como o volume de água utilizado podem

parecer proibitivos. Porém, a utilização de efluentes e emissões surgem como alternativas que viabilizam o escalonamento de microalgas e tornam o processo ainda mais sustentável (YADAVALLI; HEGGERS, 2013; HALIM *et al.*, 2016).

3.2. Fatores biológicos: Contaminação e formação de biofilme

Cultivos de microalgas em larga escala devem ser constantemente monitorados quanto à contaminação. Mesmo em fotobiorreatores, os cultivos estão expostos a diferentes fontes de contaminação contendo microrganismos indesejáveis. Contaminações podem ser vistas como algo muito problemático para a produção de biomassa e podem comprometer a obtenção dos bioprodutos desejados. De fato, alguns microrganismos afetam negativamente o crescimento das microalgas, isso porque podem favorecer a formação de biofilmes incrustantes e corrosivos (ZERIOUH *et al.*, 2017). Em cultivo de microalgas, o biofilme é formado nas paredes dos tubos ou das placas de fotobiorreatores, de modo que impedem a passagem da luz (BELOHLAV *et al.*, 2020). Ademais, dependendo da espécie de microrganismo presente, pode haver a liberação de compostos que reduzem o crescimento das microalgas (WANG *et al.*, 2013).

O controle da pureza dos cultivos pode ser especialmente desafiador, uma vez que a contaminação por outros microrganismos pode ocorrer pelo ar injetado no cultivo ou mesmo pela água utilizada. As condições dos cultivos em grande escala podem facilmente sair do controle (WANG *et al.*, 2013). Para sanar essa situação, o uso de filtros na entrada de ar e água pode ser bastante útil. Esterilizar grandes volumes de água seria muito custoso, assim, um filtro capaz de reter micropartículas pode ser uma solução simples e relativamente barata. Quando a formação de biofilme ocorre na presença de algum contaminante o resultado pode ser desastroso, apesar de algumas espécies de microalgas serem capazes de aderir isoladamente em determinados substratos.

Algumas pesquisas têm estudado a viabilidade do uso de biofilmes para acúmulo de compostos de interesse biotecnológico e focado no desenvolvimento de fotobiorreatores que facilitam a formação e a raspagem do biofilme formado. Tipo de substrato, pH, turbulência do líquido, espécie de microalga e presença de bactérias influenciam na adesão das células. Alguns desses fatores são mais importantes na adesão inicial, como o substrato e a presença de um filme de bactérias, outros são mais importantes na manutenção e aumento da espessura

do biofilme, como o pH, a turbulência e o formato da célula de microalgas (WANG *et al.*, 2018).

Estudos mostram que a diferentes espécies de microalgas são capazes de acumular maiores teores de carboidratos, proteínas, lipídeos e pigmentos, além de aumentar a taxa de consumo de nitrogênio e CO₂ (HUANG *et al.*, 2017; PENG *et al.*, 2020, SUN *et al.*, 2020) quando cultivadas em sistemas com a formação de biofilmes. Aprimorar esse método e associá-lo a obtenção de produtos da biomassa de microalga úmida pode ser um caminho que viabilize a produção de biodiesel de microalgas.

3.3. Controle das condições de cultivo e automação da produção

Como mencionado nos tópicos anteriores, o crescimento de microalgas exige uma combinação de condições que envolve a manutenção de pH, luz, temperatura, nutrientes e controle da contaminação. Quando o objetivo é aumentar produção de biomassa e compostos de interesse biotecnológico, garantir alguns parâmetros pode ser bastante útil e, em alguns casos, essencial. Alguns fatores podem apenas reduzir a taxa de crescimento, porém outros podem levar à morte abrupta de um cultivo, além disso, quanto maior o valor biotecnológico do composto, maior a exigência de se manter a qualidade e excelência dos processos produtivos (LIANG *et al.*, 2019). Dessa maneira, o uso de controladores pode ser necessário, principalmente, se o cultivo em questão exige maiores cuidados, dependendo da espécie, ou se há uso de efluentes ou injeção de emissões.

Os principais controladores para cultivos de microalgas estão relacionados com a medição de pH, CO₂ e O₂ dissolvidos, intensidade luminosa, temperatura, concentração celular (BENAVIDES *et al.*, 2015; BOROWIAK *et al.*, 2021). Há ainda sensores mais específicos, como os de hidrogênio, utilizados em cultivos de microalgas capazes de produzir esse gás em maiores volumes (DIAS *et al.*, 2019). Em sistemas de cultivo semicontínuo ou contínuo, o uso de controladores é de grande importância na troca do meio de cultura para manutenção do crescimento celular constante.

Os sensores de pH possuem uma utilização extra, pois a injeção de CO₂ ocasiona a redução do pH do meio de cultivo. Quando as células estão consumindo dióxido de carbono, o pH aumenta, assim, um pHmetro pode avaliar

indiretamente se a injeção de CO₂ está acima ou abaixo da capacidade do consumo das microalgas. O acoplamento de um dosador de CO₂ a um controlado de pH possibilita o equilíbrio entre o fornecimento de CO₂ para a realização da fotossíntese enquanto mantém o pH estável (ERBLAND *et al.*, 2020).

O crescimento celular é um parâmetro importante em cultivos de microalgas e a produção de biomassa em ambientes externos pode ser afetada de diferentes maneiras. Tanto em cultivos em ambientes externos, como os mantidos sob regime contínuo, o uso de controladores pode proporcionar muitos benefícios. Em cultivos contínuos há entrada de meio de cultura novo e saída de meio contendo células de microalgas constantemente. Sob condições de estado estacionário, a concentração da biomassa deve ser controlada ajustando a taxa de diluição (TANG *et al.*, 2012). Altos ganhos de biomassa podem ser obtidos se a taxa de crescimento se mantiver constante, assim o uso de sensores de concentração celular automatizado é altamente desejável, sendo que os mais empregados são aqueles que utilizam técnicas não invasivas, como os que medem absorvância e fluorescência da célula.

Sensores que detectam a fluorescência celular são bastante úteis, especialmente quando a espécie cultivada produz pigmentos de alto valor agregado, embora não se limite a essa única função, pois a análise da fluorescência pode dar respostas em relação à fisiologia celular. A degradação da clorofila é, geralmente, indício de que o cultivo está em condições adversas. A reversão dessa situação deve ser realizada logo no início da descoberta para aumentar as chances de uma recuperação rápida. Marxen *et al.* (2005) desenvolveram um sensor que mede a fluorescência da clorofila, no entanto, a mediação da fluorescência de outros pigmentos, como astaxantina ou outro carotenoide, pode ser empregado com a mesma finalidade.

Alguns sensores possuem alto custo de fabricação e manutenção, assim algumas pesquisas têm direcionado os esforços para a elaboração de sensores de baixo custo. Benavides *et al.* (2015) desenvolveram um sensor utilizando LEDs (*Light Emitting Diode*) que mede a turbidez do meio. Para tanto, os autores construíram uma caixa escura onde um tubo plástico transparente (para passagem da cultura celular) era localizado entre sensor RGB (*Red, Green, Blue*) e um espelho. O sensor utilizado nesse trabalho é capaz de detectar e

gerar a luz RGB, de modo que a luz atravessa o cultivo, reflete no espelho e é detectado pelo sensor. D'Agostin (2017) utilizou lâmpadas LED com pico de emissão em 517 nm para medir a turbidez do meio a partir da luz transmitida. Nesse estudo uma cubeta de acrílico, com 1 cm de caminho óptico, localizada entre o LED e o sensor foi montado e revestido com material opaco para evitar interferência da luz externa. Assim, a luz emitida atravessa a cubeta e o sensor faz a leitura, quanto menor a quantidade de luz atravessando, maior é a concentração celular.

A utilização de sensores que medem a densidade óptica aprimora o sistema de cultivo e produção de compostos, aumentando a qualidade da produção em escala. No entanto, alguns fatores devem ser levados em consideração. Os equipamentos devem ser muito bem calibrados, pois algumas organelas celulares podem influenciar na leitura, além disso, a composição celular pode mudar com o tempo. Desta maneira, associar mais de uma medida de acompanhamento pode diminuir erros (NEDBAL *et al.*, 2008). Em função da versatilidade da utilização de sensores para acompanhamento e controle dos cultivos, a associação de sensores com diferentes finalidades pode ser uma alternativa mais atraente, com o uso combinado de sensores de densidade óptica com sensores de O₂ e CO₂ (CERVENÝ *et al.*, 2009).

3.4. Recuperação da biomassa

Um dos maiores custos na produção de microalgas refere-se à coleta da biomassa. Cultivos de microalgas são relativamente diluídos, de modo que grandes volumes precisam ser manipulados para recuperação da biomassa (GRIMA *et al.*, 2003). Os principais mecanismos de separação de biomassa empregados são a floculação, a filtração, a flotação, a centrifugação, ou ainda a utilização de duas ou mais técnicas combinadas. A técnica empregada para a coleta depende das características das células de microalgas, como forma e tamanho, densidade do cultivo, da aplicação da biomassa (BRENNAN; OWENDE, 2010).

Os processos de centrifugação e eletro flotação apresentam elevada eficiência, embora o elevado consumo energético reduza sua viabilidade; por outro lado, a filtração possui baixo custo financeiro, mas necessita de trabalho braçal constante para troca de filtros e demanda mais tempo de trabalho

individual; por fim, a floculação é um processo de baixo custo energético, embora a escolha do agente floculante deva ser observada com cautela, a fim de reduzir custos operacionais elevados (UDUMAN; QI; DANQUAH, 2010; CHEN *et al.*, 2011). De todas essas técnicas, a que apresenta menor custo é a floculação, e consiste na adição de compostos capazes de promover a agregação das células em suspensão, aumentando sua densidade e favorecendo a decantação, com a consequente concentração da biomassa.

Vários agentes químicos têm sido utilizados para essa finalidade, incluindo os sais de metais de cátions polivalentes como $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, e FeCl_3 ; e os coagulantes naturais de origem vegetal e animal, como a quitosana e os taninos, que são polímeros policatiônicos naturais e biodegradáveis de ampla aplicabilidade industrial (SELESU *et al.*, 2016). As vantagens da utilização de agentes floculantes orgânicos consiste em não ocasionarem a contaminação da biomassa impossibilitando sua utilização e de seus compostos, além de possui um apelo ambiental em função da disposição final dos resíduos gerados no processo.

4. Oportunidades da produção em escala

A produção de microalgas em larga escala enfrenta algumas dificuldades, como produção de inóculo, alto custo e, em caso de cultivos em ambientes externos, variação das condições climáticas. Alguns desses impasses podem ser resolvidos com estratégias que envolvem o uso de emissões, efluentes, manutenção de cultivos mixotróficos e heterotróficos, além de permitir a obtenção de bioprodutos diversos.

4.1. Tratamento de efluentes e emissões

Por meio da fotossíntese, as microalgas convertem a energia luminosa do Sol em energia bioquímica. A integração entre sistemas geradores de emissões gasosas e o cultivo de microalgas se apresenta como uma possibilidade bastante factível, resultando não somente no aumento da produtividade de biomassa, como também realizando o tratamento desses gases.

Atualmente existem alguns métodos voltados para a purificação de emissões, tais como purificação por membrana, por lavagem de gás, por

criogenia, por adsorção e por via biológica (ZHAO; SU, 2014). Do ponto de vista técnico, todas essas metodologias são viáveis, entretanto, a técnica de fixação biológica tem sido considerada uma escolha promissora, além de sustentável uma vez que, ao fixar CO₂ o organismo fotossintetizante produz biomassa rica em compostos de interesse biotecnológico (SPOLAORE *et al.*, 2006; PULZ; GROSS, 2004). Nesse cenário, surgem as microalgas que possuem a vantagem de ter um rápido crescimento e maior eficiência fotossintética (FRANCO *et al.*, 2013).

A utilização de CO₂ como fonte de carbono em cultivos de microalgas promove aumento da produtividade de biomassa, lipídeos e demais compostos. De acordo com Suali e Sarbatly (2012), a suplementação do ar atmosférico com 5% de CO₂ resultou no aumento de 63% da produção de lipídeos em cultivos de *Chlorella emersonii*. Os mesmos bons resultados estão sendo encontrados em experimentos utilizando emissões industriais, como o trabalho realizado por Tastan *et al.* (2013) que avaliou os efeitos dos gases originários da queima de gás liquefeito de petróleo (GLP) e gasolina (GSN) no crescimento das microalgas *Phormidium* sp. e *Chlorella* sp. A utilização de gases de exaustão de um gerador a diesel levou ao aumento de até 287% na produção de lipídeos (CORRÊA, 2015) e 1,8 vezes na produção de biomassa (FINGER, 2017). Interessantemente, não foi observado inibição de crescimento na presença de outros gases, como CO e espécies de óxido de nitrogênio da microalga *Scenedesmus obliquus* (atualmente *Tetradesmus obliquus*).

A combinação do uso de emissões com o tratamento de efluentes pode promover ganhos em relação ao acúmulo de compostos de interesse. Miyawaki (2013) observou que a injeção de biogás contendo 37% de CO₂ promoveu um aumento no número de células e o teor de lipídeos em cultivos de *Scenedesmus disciformes* mantidas em efluente suíno, bovino e esgoto sanitário.

O uso das microalgas na biorremediação de efluentes urbanos e agroindustriais tem sido exaustivamente estudado (OBAJA *et al.*, 2003; JIMENEZ-PEREZ *et al.*, 2004; FIERRO; SANCHEZ-SAAVEDRA; COPALCUA, 2008). Dados da literatura trazem resultados promissores em relação à biorremediação de efluente suíno e aumento da produção de biomassa de microalgas (OBAJA *et al.*, 2003; OBAJA; MACE; MATA-ALVAREZ, 2005; KIM *et al.*, 2007; TAHER, 2013). Mulbry *et al.* (2008) obtiveram uma produtividade de

biomassa de $24 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ com taxas de incorporação de nitrogênio e fósforo de $1,8$ e $0,3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, respectivamente. Além do aumento da produção de biomassa, as microalgas são capazes de reduzir o teor da carga orgânica (COD), chegando a uma redução de mais de 65% (JIMENEZ-PEREZ *et al.*, 2004; DICHTL; ROGGE; BAUERFELD, 2007; MULBRY *et al.*, 2008; WANG, BLUCK; VAN WIE, 2014).

Efluentes representam um passivo ambiental de grande relevância, uma vez que a alta carga orgânica pode gerar a eutrofização de rios, se não tratado adequadamente. Por essa razão, o emprego dos cultivos de microalgas como ferramenta para biorremediação se apresenta como uma das principais potencialidades dessa tecnologia, sobretudo quando associada a outros processos biotecnológicos para obtenção de bioprodutos e moléculas bioativas.

4.2. Obtenção de bioprodutos

O consumo de microalgas foi amplamente realizado por tribos indígenas durante séculos. Chineses já consumiam espécies de *Nostoc*, *Spirulina* e *Aphanizomenon* há centenas de anos (JENSEN; GINSBERG; DRAPEAU, 2001). Os primeiros cultivos de microalgas tinham como objetivo compreender a metodologia para cultivo e estiveram ligados a estudos bacteriológicos. No entanto, após 1940, os experimentos com cultivos de microalgas saíram dos estudos básicos e passaram para os estudos relacionados a aplicações biotecnológicas com cultivos em grandes escalas (BOROWITZKA, 1999). Atualmente, dada a importância econômica das diferentes aplicações para a biomassa de microalgas, os estudos estão voltados para o aumento da produtividade de biomassa, lipídeos para produção de biocombustíveis e produtos de valor agregado.

Após 1948 nos Estados Unidos, Alemanha e Japão, as microalgas surgiram como alternativa à suplementação alimentar (BOROWITZKA, 1999), nesse mesmo período, tiveram início as pesquisas acerca de substâncias biologicamente ativas a partir da biomassa de microalgas (BOROWITZKA, 1995). Tendo em vista a composição de biomassa de microalgas rica em compostos essenciais para alimentação humana e animal, alguns estudos já demonstraram a possibilidade de suplementar alimentação e em ração de aves (GINZBERG *et al.*, 2000), peixes (BALEN *et al.*, 2016) e cães (LIRIO, 2019).

Além do teor nutricional, as microalgas têm potencial para a produção de uma variedade de produtos, como pigmentos (clorofila, carotenoides, ficobilina), compostos bioativos (vários compostos antibacterianos, antifúngico, antiviral, antiprotozoário), proteínas, polissacarídeos (β 1,3-glucana, carragenana, amido, alginatos, celulose), biopoliésteres e lipídeos (poli-insaturados, ácidos graxos e hidrocarbonetos).

Microalgas são uma importante fonte de pigmentos, como a clorofila e os carotenoides. Esses pigmentos são aplicados com sucesso na área alimentar, em cosméticos e na indústria farmacêutica. O pigmento em maior concentração nas células de microalgas é a clorofila, o principal pigmento responsável por captar os fótons em organismos fotossintetizantes. A clorofila é um diéster e pode ser saponificado por tratamento alcalino, dando origem à clorofilina. Esses derivados são importantes corantes utilizados na alimentação, em indústrias têxteis e de papel (MORTENSEN; GEPPEL, 2007). Ademais, estudos indicam que a clorofilina possui ação antitumoral (DIAZ; LI; DASHWOOD, 2003).

Outra classe de pigmentos presente em células de microalgas são os carotenoides. Astaxantina, xantofilas, zeaxantina, cantaxantina, equinenona, e β -caroteno são exemplos de carotenoides. Além da proteção do aparato fotossintético, carotenoides possuem grande importância na natureza, como coloração de penas de aves, peixes, anfíbios e répteis para mostrar sua aptidão (baixa carga parasitária e alta ingestão calórica). Pigmentação por astaxantina atua ainda na atração de potenciais parceiros sexuais, assim como na indicação do nível social (BLOUNT; MCGRAW, 2008). Ademais, carotenoides podem ser importantes no anúncio de toxicidade ou coloração adequada para camuflagem (STODDARD, 2012). Tais pigmentos exercem um papel importante nas células, pois absorvem o excesso de energia luminosa, evitando que a clorofila sofra fotossintetização. Os carotenoides são excelentes antioxidantes e servem como precursor da vitamina A. Murthy *et al.* (2005) investigaram a microalga *Dunaliella salina* como matéria prima para produção de carotenoides e avaliaram a atividade biológica desse composto. Os resultados desse estudo mostraram que as atividades dos carotenoides de microalga superam a atividade de carotenoides sintéticos.

Outro carotenoide de grande relevância no cenário comercial é a astaxantina, a qual tem importantes aplicações nas indústrias farmacêuticas e

de cosmética, e em indústrias de suplementação humana e ração animal. Os benefícios para a saúde humana têm sido relatados pela literatura científica, tais como: ação antioxidante, fotoproteção, manutenção da saúde dos olhos, da pele, das células e do coração, tratamento de doenças inflamatórias, propriedades antitumorais, aumento da resposta imune e tratamento de doenças degenerativas (GUERIN; HUNTLEY; OLAIZOLA, 2003). Além dos benefícios à saúde, estudos demonstram que uma dieta baseada em astaxantina produzida pela microalga *Haematococcus pluvialis* não possui efeitos tóxicos (GUERIN; HUNTLEY; OLAIZOLA, 2003).

Outro grupo de moléculas com potenciais aplicações é o dos carboidratos, devido ao potencial de aplicação terapêutica que apresentam. Estudos com o composto β 1,3-glucana têm mostrado que esse composto é um imunestimulador, antioxidante e redutor do colesterol no sangue e foi encontrado em cepas de *Chlorella* (SPOLAORE, 2006). Além da aplicação nutricional, alguns carboidratos como polissacarídeos sulfatados podem ser aplicados em terapias antiadesivas em infecções bacterianas. Outros carboidratos de interesse são alginatos, celulose ou carragenanas que são utilizados como emulsificantes e estabilizantes em vários produtos alimentícios (KOLLER; MUHR; BRAUNEGG, 2014).

Dentre os compostos já comercializados de microalgas pode-se citar os ácidos graxos, como o DHA e o EPA, extraídos da biomassa de *Schizochytrium* sp. Apesar de um dos principais destinos para os lipídeos de microalga ter sido a produção de biodiesel, as células de microalgas são ricas em ácidos graxos de alto valor agregado. Muitas espécies de microalgas contêm ácidos graxos poli-insaturados, como o ácido eicosapentaenóico (EPA), ácido docosahexaenóico (DHA), ácido linoléico (GLA) e o ácido araquidônico (AA). Esses ácidos graxos podem ser comercializados para aplicações farmacêuticas ou terapêuticas. Alguns ácidos graxos livres têm sido estudados como compostos antimicrobianos (MOLINA-CÁRDENAS; SÁNCHEZ-SAAVEDRAS; LIZÁRRAGA-PARTIDA, 2014).

No escopo da utilização dos compostos microalgais em atividades relacionadas ao controle biológico, as moléculas presentes na biomassa e extratos de algumas espécies possuem potencial atividade antimicrobiana, como demonstrado Ghasemi *et al.* (2007), que obtiveram resultados positivos na

utilização de extratos aquosos e orgânicos de *Chroococcus dispersus*, *Chlamydomonas reinhardtii* e *Chlorella vulgaris* frente ao crescimento de fungos e bactérias. De maneira similar, Dantas *et al.* (2019) testaram os efeitos de extratos aquosos e orgânicos de *Scenedesmus subspicatus* no crescimento de *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*, com resultados promissores obtidos em diferentes solventes. Em outro estudo, Santoyo *et al.* (2009) determinaram a atividade antimicrobiana de extratos orgânicos de *Hematococcus pluvialis* contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*, com melhores resultados obtidos utilizando extratos etanólicos.

Alguns estudos mostram ainda o potencial das microalgas na agricultura, indicando atividade fungicida contra fitopatógenos. Ördög *et al.* (2004) obtiveram extratos aquosos de diferentes espécies de microalgas (Cyanobacteria e Chlorophyte) e os avaliaram quanto à atividade biológica contra diferentes espécies de fungos filamentosos e bactérias, incluindo fitopatógenos. Extratos de duas clorófitas, *Desmococcus olivaceus* e *Scenedesmus* sp. apresentaram atividade bactericida contra *Pseudomonas syringae* e atividade fungicida contra *Alternaria* sp., respectivamente. Somada a atividade antifúngica, as microalgas aplicação como biofertilizantes. Mazepa *et al.* (2021) avaliaram a aplicação da biomassa e do extrato aquoso da microalga *Desmodemus subspicatus* na germinação e crescimento de plantas de alface, identificando a presença de glicosídeos e da citocinina natural zeatina, responsáveis pela atividade observada. Além da aplicação diretamente no campo, os extratos das microalgas *D. subspicatus*, *Chlorella vulgaris* e *Messastrum gracile* demonstraram potencial aplicação na propagação *in vitro* de orúideas, ampliando as possibilidades de aplicação das microalgas na agricultura (CORBELLINI *et al.*, 2020; NAVARRO *et al.*, 2021).

4.3. Produção de biomassa, bioprodutos e integração de processos

O Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS) é um grupo de pesquisa multidisciplinar da Universidade Federal do Paraná (UFPR) localizado na cidade de Curitiba-PR, que busca explorar diversos processos biotecnológicos, tendo como principal atividade o cultivo de microalgas em fotobiorreatores em escala industrial. Inicialmente, o objetivo do

grupo era atingir a autossuficiência energética através da produção de biodiesel gerado com os lipídeos provenientes da biomassa microalgal. Atualmente a planta industrial do NPDEAS integra diferentes módulos e processos, visando a obtenção de diferentes produtos (Figura 3).

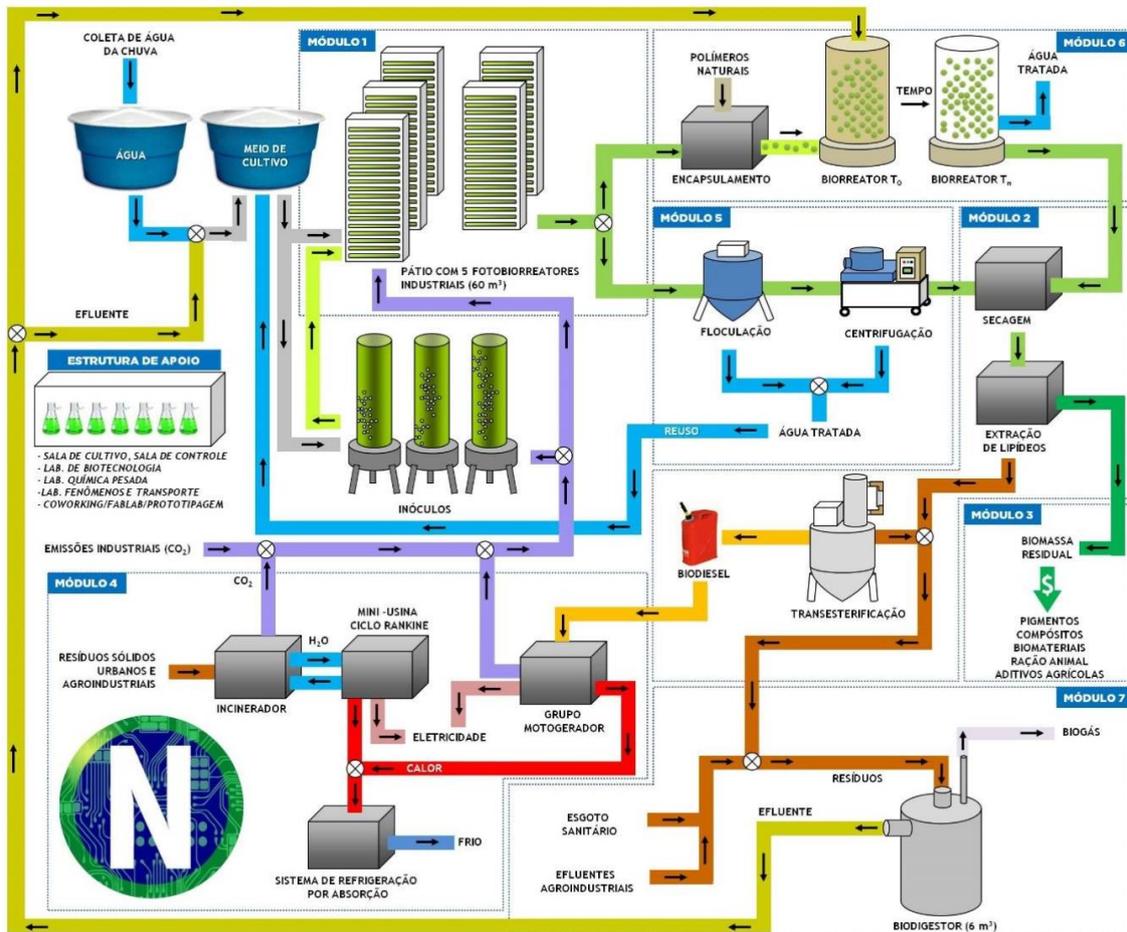


Figura 3. Diagrama esquemático dos módulos de produção do NPDEAS.

Dentre os processos diretamente relacionados à produção de biomassa em escala é possível destacar o cultivo de microalgas em fotobiorreatores com volume de 12 m³, tratamento de efluentes agroindustriais, tratamento de emissões de sistema de incineração de resíduos sólidos urbanos (RSU), unidade de recuperação, centrifugação, secagem e processamento da biomassa para extração de compostos e obtenção de bioprodutos. Além dessas atividades, a planta do NPDEAS integra outros processos modulares:

- Módulo 1: Unidade de fotobiorreatores, onde as microalgas são cultivadas em sistemas de diferentes volumes e modelos para produção de biomassa;
- Módulo 2: Unidade de secagem da biomassa de microalgas e produção de biodiesel;
- Módulo 3: Unidade de processamento de biomassa residual para bioprodutos (pigmentos, compósitos, ração animal, biomateriais);
- Módulo 4: Unidade de geração de energia elétrica e refrigeração por absorção através de incineração de resíduos sólidos urbanos (RSU) e grupo motogerador, para geração de energia elétrica com diferentes combustíveis;
- Módulo 5: Unidade de floculação e centrifugação para produção de água tratada, pós cultivo de microalgas e tratamento terciário de efluentes;
- Módulo 6: Unidade de encapsulamento de microalgas para tratamento de efluentes e produção de água tratada,
- Módulo 7: Unidade de Biodigestão para tratamento de efluentes brutos, geração de biogás e efluente biodigerido utilizado como meio de cultura para o cultivo de microalgas no módulo 1.

Além de funcionarem de maneira integrada, as unidades permitem o desenvolvimento de diferentes produtos que atendem um amplo espectro de atividades no mercado. A concepção modular do sistema permite ainda a futura comercialização dos sistemas completos, ou separadamente conforme a demanda.

O destaque dos cultivos de microalgas para produção de biomassa e desenvolvimento dos demais processos pode ser avaliado pelo número de publicações em revistas científicas indexadas nos últimos dez anos. Desde sua criação em 2008, alunos de pós-graduação de diferentes áreas desenvolveram suas pesquisas no NPDEAS, o que resultou em publicações em diferentes áreas do conhecimento, como Genética, Bioquímica, Ciência dos Materiais, Engenharia Mecânica e Engenharia Química, evidenciando a pluralidade de oportunidades que a produção de microalgas e a integração de processos oferece. O Quadro 1 apresenta algumas das publicações relacionadas ao cultivo de microalgas realizadas por integrantes do NPDEAS nos últimos dez anos.

Quadro 1. Artigos científicos publicados pelo NPDEAS ao longo da última década.

Área de pesquisa	Título do trabalho	Referência
Modelagem e simulação da produção de biomassa e outros processos	A simplified mathematical model to predict PVC photodegradation in photobioreactors	D'Aquino <i>et al.</i> , 2012
	Mathematical model of the CO ₂ solubilization reaction rates developed for the study of photobioreactors	Sugai-Guérios <i>et al.</i> , 2013
	The microalgae derived hydrogen process in compact photobioreactors	Vargas <i>et al.</i> , 2014
	Mass transfer modeling and maximization of hydrogen rhythmic production from genetically modified microalgae biomass	Vargas <i>et al.</i> , 2016
	Modeling microalgae derived hydrogen production enhancement via genetic modification	Vargas <i>et al.</i> , 2016
	The experimental validation of a large-scale compact tubular microalgae photobioreactor model	Ribeiro <i>et al.</i> , 2017
	Modeling, simulation, and optimization of a microalgae biomass drying process	Disconzi <i>et al.</i> , 2019
	Experimental calibration of a biohydrogen production estimation model	Dias <i>et al.</i> , 2019
Cultivo, produção e recuperação da biomassa em fotobiorreatores	Energy analysis of lipid extraction of <i>Scenedesmus</i> sp. produced in pilot scale	Schroeder <i>et al.</i> , 2015
	Maximum microalgae biomass harvesting via flocculation in large scale photobioreactor cultivation	Selesu <i>et al.</i> , 2016
	Thermal treatment of clay-based ceramic membranes for microfiltration of <i>Acutodesmus obliquus</i>	Henriques <i>et al.</i> , 2017
	Optimization of flocculation with tannin-based flocculant in the water reuse and lipidic production for the cultivation of <i>Acutodesmus obliquus</i>	Hesse <i>et al.</i> , 2017
	The harvesting of high lipid content microalgae biomass through a flocculation strategy	Lemos <i>et al.</i> , 2018
	The effect of light intensity on the production and accumulation of pigments and fatty acids in <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Conceição <i>et al.</i> , 2020
	Enhanced microalgae biomass and lipid output for increased biodiesel productivity	Morais <i>et al.</i> , 2021
	Life cycle assessment of biomass production in microalgae compact photobioreactors	Silva <i>et al.</i> , 2015

Tratamento de efluentes, emissões e processos ambientais	Environmental study of producing microalgal biomass and bioremediation of cattle manure effluents by microalgae cultivation	Scherer <i>et al.</i> , 2017
	Enhanced biohydrogen production from microalgae by diesel engine hazardous emissions fixation	Corrêa <i>et al.</i> , 2017
	A genset and mini-photobioreactor association for CO ₂ capturing, enhanced microalgae growth and multigeneration	Telles <i>et al.</i> , 2018
	Environmental evaluation of flocculation efficiency in the separation of the microalgal biomass of <i>Scenedesmus</i> sp. cultivated in full-scale photobioreactors	Scherer <i>et al.</i> , 2018
	Microalgae derived biomass and bioenergy production enhancement through biogas purification and wastewater treatment	Miyawaki <i>et al.</i> , 2021
Avaliação de atividade biológica e obtenção de bioprodutos diversos	Microalgae biodiesel via <i>in situ</i> methanolysis	Carvalho Júnior <i>et al.</i> , 2011
	A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials	Satyanarayana; Mariano; Vargas, 2011
	Effect of defatted microalgae (<i>Scenedesmus obliquus</i>) biomass inclusion on growth performance of <i>Rhamdia quelen</i> (Quoy & Gaimard, 1824)	Balen <i>et al.</i> , 2016
	Extraction of <i>Acutodesmus obliquus</i> lipids using a mixture of ethanol and hexane as solvent	Escorsim <i>et al.</i> , 2018
	Diets containing residual microalgae biomass protect fishes against oxidative stress and DNA damage	Marques <i>et al.</i> , 2019

5. Considerações finais

Além do potencial científico que os cultivos de microalgas apresentam, a produção de biomassa integrada ao tratamento de efluentes, tratamento de emissões e obtenção de bioprodutos possui enorme potencial de aplicação industrial prática, oferecendo diversas oportunidades para o setor industrial. Para tanto, a integração de diferentes processos, como idealizado no NPDEAS, pode reduzir os custos individuais de produção de moléculas bioativas, biocombustíveis e demais bioprodutos, aumentando a viabilidade técnica e

econômica, permitindo que as microalgas possam ser utilizadas em uma gama cada vez maior de aplicações.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro do Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) e Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) através do financiamento de projetos e fornecimento de bolsas de pós-graduação.

7. Referências

ASGHARPOUR, M.; RODGERS, B.; HESTEKIN, J. A. Eicosapentaenoic acid from *Porphyridium cruentum*: Increasing growth and productivity of microalgae for pharmaceutical products. **Energies**, v. 8, p. 10487-10503, 2015. <https://doi.org/10.3390/en80910487>.

ASSUNÇÃO, J.; MALCATA, F. X. Enclosed “non-conventional” photobioreactors for microalga production: A review, **Algal Research**, v. 52, p. 102107, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102107>.

BALEN, R. E. *et al.* Effect of defatted microalgae (*Scenedesmus obliquus*) biomass inclusion on growth performance of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 31, p. 98-101, 2016. <https://doi.org/10.1111/jai.12969>.

BASU, S. *et al.* Enhanced CO₂ sequestration by a novel microalga: *Scenedesmus obliquus* SA1 isolated from bio-diversity hotspot region of Assam, India. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 369–377, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.010>.

BELOHLAV, V. *et al.* Effect of hydrodynamics on the formation and removal of microalgal biofilm in photobioreactors. **Biosystems Engineering**, v. 200, p. 315 – 327, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.10.014>.

BENAVIDES, M. *et al.* Design and test of a low-cost RGB sensor for online measurement of microalgae concentration within a photo-bioreactor. **Sensors**, v. 15, p. 4766-4780, 2015. <https://dx.doi.org/10.3390/s150304766>.

BLOUNT, J. D.; MCGRAW, K. J. Signal functions of carotenoid colouration. In: BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. Carotenoids. Natural Functions. Birkhäuser Verlag, p. 213-32, 2008.

BOROWIAK, D. *et al.* Novel, automated, semi-industrial modular photobioreactor system for cultivation of demanding microalgae that produce fine chemicals—The next story of *H. pluvialis* and astaxanthin, **Algal Research**, v. 53, p. 102151, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102151>.

BOROWITZKA, M. A. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. **Journal of Applied Phycology**, v. 7, p. 3-15, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF00003544>.

BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. **Journal of Biotechnology**, v. 70, p. 313-321, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00083-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00083-8).

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, p. 557-577, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>.

CARVALHO JÚNIOR, R. M. *et al.* Microalgae biodiesel via in situ methanolysis. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 86, p. 1418-1427, 2011. <https://doi.org/10.1002/jctb.2652>.

CERVENÝ, J. *et al.* Photobioreactor for cultivation and real-time, in-situ measurement of O₂ and CO₂ exchange rates, growth dynamics, and of chlorophyll fluorescence emission of photoautotrophic microorganisms. **Engineering in Life Sciences**, v. 9, p. 247-253, 2009. <https://doi.org/10.1002/elsc.200800123>.

CHEN, F.; JOHNS, M. R. Heterotrophic growth of *Chlamydomonas reinhardtii* on acetate in chemostat culture. **Process Biochemistry**, v. 31, p. 602-604, 1996.

CHENG, Y. *et al.* Alga-based biodiesel production and optimization using sugar cane as the feedstock. **Energy and Fuels**, v. 23, p. 4166-4173, 2009. <https://doi.org/10.1021/ef9003818>.

CHISTI, Y. Constraints to commercialization of algal fuels. **Journal of Biotechnology**, v. 167, p. 201-214, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.07.020>.

CONCEIÇÃO, D. *et al.* The effect of light intensity on the production and accumulation of pigments and fatty acids in *Phaeodactylum tricornutum*. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, p. 1017–1025, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-02001-6>.

CORBELLINI, J. R. *et al.* Effect of microalgae *Messastrum gracile* and *Chlorella vulgaris* on the in vitro propagation of orchid *Cattleya labiate*. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, p. 4013-4027, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02251-9>.

CORRÊA, D. O. *et al.* Enhanced biohydrogen production from microalgae by diesel engine hazardous emissions fixation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, p. 21463-21475, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.05.176>.

CORRÊA, D. O. Desenvolvimento e caracterização do cultivo de microalgas em fotobiorreator alimentado por emissões gasosas de motores. Dissertação de Mestrado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2015.

D'AGOSTIN, D. A. L. Automação de fotobiorreatores para cultivo de microalgas em regime contínuo visando aumento da produtividade. Dissertação de Mestrado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2017.

D'AQUINO, C. A. *et al.* A simplified mathematical model to predict PVC photodegradation in photobioreactors. **Polymer Testing**, v. 31, p. 638-644, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.03.002>.

DANTAS, D. M. M. *et al.* Evaluation of antioxidant and antibacterial capacity of green microalgae *Scenedesmus subspicatus*. **Food Science and Technology International**, v. 25, n. 4, p. 318-326, 2019. <https://doi.org/10.1177%2F1082013218825024>.

DERNER, R. B. *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v.36, n 6, p.1959-1967, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000600050>.

DEVI, M. P.; SUBHASH, G. V.; MOHAN, S. V. Heterotrophic cultivation of mixed microalgae for lipid accumulation and wastewater treatment during sequential growth and starvation phases: effect of nutrient supplementation. **Renewable Energy**, v. 43, p. 276-283, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.11.021>.

DICHTL, N.; ROGGE, S.; BAUERFELD, K. Novel strategies in sewage sludge treatment. **Clean-Soil Air Water**, v. 35, p. 473-479, 2007. <https://doi.org/10.1002/clen.200720022>.

DIAS, F. G. *et al.* Experimental calibration of a biohydrogen production estimation model. **Journal of Verification, Validation and Uncertainty Quantification**, v. 4, p. 1-10, 2019. <https://doi.org/10.1115/1.4044664>.

DIAZ, G. D., LI, Q.; DASHWOOD, R. C. Caspase-8 and apoptosis inducing mediate a cytochrome c-independent pathway of apoptosis in human colon cancer cells induced by the dietary phytochemical chlorophyllin. **Cancer Research**, v. 63, p. 1254-1261, 2003.

DISCONZI, F. P. *et al.* Modeling, simulation, and optimization of a microalgae biomass drying process. International. **Journal of Energy Research**, v. 43, p. 3421-3435, 2019. <https://doi.org/10.1002/er.4481>.

DOLGANYUK *et al.* Microalgae: A promising source of valuable bioproducts. **Biomolecules**, v. 10, 2020. doi:10.3390/biom10081153.

EBERHARD, S.; FINAZZI, G.; WOLLMAN, F-A. The dynamics of photosynthesis. **Annual Reviews of Genetics**, v. 42, p. 463-515, 2008. [10.1146/annurev.genet.42.110807.091452](https://doi.org/10.1146/annurev.genet.42.110807.091452).

ERBLAND, P. *et al.* Design and performance of a low-cost, automated, large-scale photobioreactor for microalgae production. **Aquacultural Engineering**, v. 90, p. 102103, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102103>.

ESCORSIM, A. M. *et al.* Extraction of *Acutodesmus obliquus* lipids using a mixture of ethanol and hexane as solvent. **Biomass and Bioenergy**, v. 108, p. 470-478, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.10.035>.

FIERRO, S.; SANCHEZ-SAAVEDRA, M. D. P.; COPALCUA, C. Nitrate and phosphate removal by chitosan immobilized *Scenedesmus*. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1274-1279. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.02.043>.

FINGER, G. S. W. Aumento de biomassa de microalgas cultivadas em fotobiorreatores pela injeção de emissões de grupo motogerador diesel. Dissertação de Mestrado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2018.

FRANCO, A. L. C., *et al.* Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 3, p. 437-448, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000300015>.

GHASEMI, Y. *et al.* Antifungal and antibacterial activity of the microalgae collected from paddy fields of Iran. **Journal of Biological Sciences**, 2007.

GINZBERG, A. *et al.* Chickens fed with biomass of the red microalga *Porphyridium* sp. have reduced blood cholesterol level and modified fatty acid composition in egg yolk. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, p. 325-330, 2020. <https://doi.org/10.1023/A:1008102622276>.

GÓMEZ-PÉREZ, C. A. *et al.* CFD simulation for reduced energy costs in tubular photobioreactors using wall turbulence promoters. **Algal Research**, v. 12, p. 1 – 9, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2015.07.011>.

GONÇALVES, A. L.; SIMÕES, M.; PIRES, J. C. M. The effect of light supply on microalgal growth, CO₂ uptake and nutrient removal from wastewater. **Energy Conversion and Management**, v. 85, p. 530-536, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2014.05.085>.

GRIMA, E. M. *et al.* Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, p. 491-515, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(02\)00050-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00050-2).

GUERIN, M.; HUNTLEY, M. E.; OLAIZOLA, M. *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. **Trends in Biotechnology**, v. 21, p. 210-216, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(03\)00078-7](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00078-7).

HALIM, F. T. A. Sustainable microalgae-based palm oil mill effluent treatment process with simultaneous biomass production. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 94, p. 1848 – 1854, 2016. [10.1002/cjce.22584](https://doi.org/10.1002/cjce.22584).

HENRIQUES, J. D. A. *et al.* Thermal treatment of clay-based ceramic membranes for microfiltration of *Acutodesmus obliquus*. **Applied Clay Science**, v. 150, p. 217-224, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.09.017>.

HESSE, M. C. S. *et al.* Optimization of flocculation with tannin-based flocculant in the water reuse and lipidic production for the cultivation of *Acutodesmus obliquus*. **Separation Science and Technology**, v. 52, p. 936-942, 2017. <https://doi.org/10.1080/01496395.2016.1269130>.

HLAVOVA, M. TUROCZY, Z.; BISOVA, K. Improving microalgae for biotechnology—From genetics to synthetic biology. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 1194 – 1203, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.01.009>.

HUANG, B. *et al.* Study on high-CO₂ tolerant *Scenedesmus* sp. and its mechanism via comparative transcriptomic analysis. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 42, p. 101331, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2020.101331>.

HUANG, Y. *et al.* Comparison of *Chlorella vulgaris* biomass productivity cultivated in biofilm and suspension from the aspect of light transmission and microalgae affinity to carbon dioxide. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 267-373, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.099>.

JENSEN, G. S.; GINSBERG, D. I.; DRAPEAU, C. Blue-green alga as an immunoenhancer and biomodulador. **Journal of the American Nutraceutical Association**, v 3, p. 1-7, 2001.

JIANG, Y. *et al.* Utilization of simulated flue gas for cultivation of *Scenedesmus dimorphus*. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 359-364, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.119>.

JIMENEZ-PEREZ, M. V. *et al.* Growth and nutrient removal in free and immobilized planktonic green algae isolated from pig manure. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 34, n. 5, p. 392-398, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.07.010>.

KIM, M. K. *et al.* Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2220-2228, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.031>.

KOLLER, M.; MUHR, A.; BRAUNEGG, G. Microalgae as versatile cellular factories for valued products. **Algal Research**, v. 6, p. 52-63, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.09.002>.

LEE, J-S. *et al.* Effects of SO₂ and NO on growth of *Chlorella* sp. KR-1. **Bioresource Technology**, v. 82, p. 1 – 4, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00158-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00158-4).

LEMOS, J. S. *et al.* The harvesting of high lipid content microalgae biomass through a flocculation strategy. **Revista de Engenharia Térmica**, v. 17, p. 41-47, 2018. <http://dx.doi.org/10.5380/reterm.v17i2.64130>.

LEVIN, G. *et al.* The desert green algae *Chlorella ohadii* thrives at excessively high light intensities by exceptionally enhancing the mechanisms that protect photosynthesis from photoinhibition. **The Plant Journal**, v. 106, p. 1260 – 1277, 2021. <https://doi.org/10.1111/tpj.15232>.

LI, X.; XU, H.; WU, Q. Large-scale biodiesel production from microalgae *Chlorella protothecoides* through heterotrophic cultivation in bioreactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 98, p. 764-771, 2007. <https://doi.org/10.1002/bit.21489>.

LIANG, M-H *et al.* High-value bioproducts from microalgae: Strategies and progress. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, p. 2423-2441, 2019. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1455030>.

LIANG, Y.; SARKANY, N.; CUI, Y. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. **Biotechnology Letters**, v. 31, p. 1043-1049, 2009. <https://doi.org/10.1007/s10529-009-9975-7>.

LIRIO, F. B. Adição da biomassa da microalga *Tetradismus obliquus* em ração canina, com modelagem matemática do processo produtivo e da geração de nutrientes. Tese de Doutorado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2019.

LIU, J. *et al.* Production potential of *Chlorella zofingienesis* as a feedstock for biodiesel. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8658-8663, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.082>.

LOWREY, J.; YILDIZ, I. Investigation of heterotrophic cultivation potential of *Chlorella vulgaris* and *Tetraselmis chuii* in controlled environment wastewater growth media from dairy, poultry and aquaculture industries. **Acta Horticulturae**, v. 1037, p. 1109-1114, 2014. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1037.147>.

MAEDA, K. *et al.* CO₂ fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae. **Energy Conversion and Management**, v. 36, p. 717 – 720, 1995. [https://doi.org/10.1016/0196-8904\(95\)00105-M](https://doi.org/10.1016/0196-8904(95)00105-M).

MARQUES, A. E. M. L. *et al.* Diets containing residual microalgae biomass protect fishes against oxidative stress and DNA damage. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 2933-2940, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01825-6>.

MARTÍNEZ, M. E. *et al.* Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 73, n. 3, p. 263-272, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00121-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00121-2).

MARXEN, K. *et al.* A photobioreactor system for computer controlled cultivation of microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 2005, p. 535-549, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10811-005-9004-8>.

MAZEPA, E. *et al.* Plant growth biostimulant activity of the green microalga *Desmodesmus subspicatus*. **Algal Research**, v. 59, p. 1-10, 2021. <http://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102434>.

MEHARIYA *et al.* Integrated approach for wastewater treatment and biofuel production in microalgae biorefineries. **Energies**, v. 14, p. 2282, 2021. <https://doi.org/10.3390/en14082282>.

MIYAWAKI, B. Purificação de biogás através de cultivo de microalga em resíduos agroindustriais. Dissertação de Mestrado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2014.

MIYAWAKI, B. *et al.* Microalgae derived biomass and bioenergy production enhancement through biogas purification and wastewater treatment. **Renewable Energy**, v. 163, p. 1153-1165, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.09.045>.

MOLINA-CÁRDENAS, C. A.; SÁNCHEZ-SAAVEDRA, M. P; LIZÁRRAGA-PARTIDA. Inhibition of pathogenic *Vibrio* by the microalgae *Isochrysis galbana*. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 2347-2355, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0270-1>.

MORAIS, K. C. C. *et al.* Enhanced microalgae biomass and lipid output for increased biodiesel productivity. **Renewable Energy**, v. 163, p. 138-145, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.08.082>.

MORENO-GARCIA *et al.* Microalgae biomass production for a biorefinery system: Recent advances and the way towards sustainability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 493 – 506, 2017.

MORTENSEN, A.; GEPPEL, A. HPLC-MS analysis of the green food colorant sodium copper chlorophyllin. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 8, p. 19-25, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.018>.

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. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.073>.

MURTHY, K. N. C. *et al.* In vivo antioxidant activity of carotenoids from *Dunaliella salina* – a green microalga. **Life Sciences**, v. 76, p. 1381-1390, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.10.015>.

NAVARRO, Q. R. *et al.*, Efficient use of biomass and extract of the microalga *Desmodesmus subspicatus* (Scenedesmaceae) in asymbiotic seed germination and seedling development of the orchid *Cattleya warneri*. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, p. 2189-2207, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02442-y>.

NEDBAL, L. *et al.* A photobioreactor system for precision cultivation of photoautotrophic microorganisms and for high-content analysis of suspension dynamics. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 100, p. 902-910, 2008. <https://doi.org/10.1002/bit.21833>.

NWOBA, E. G. *et al.* Light management technologies for increasing algal photobioreactor efficiency. **Algal Research**, v. 39, p. 101433, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101433>.

OBAJA, D. *et al.* Nitrification, denitrification and biological phosphorus removal in piggy wastewater using a sequencing batch reactor. **Bioresource**

Technology, v. 87, n. 1, p. 103-111, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00229-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00229-8).

OBAJA, D.; MACÉ, S.; MATA-ALVAREZ, J. Biological nutrient removal by a sequencing batch reactor (SBR) using an internal organic carbon source in digested piggery wastewater. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 7-14, 2005. [10.1016/j.biortech.2004.03.002](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.03.002).

ÖRDÖG, V. *et al.* Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. **Journal of Applied Phycology**, v. 16, n. 4, p. 309-314, 2004. <https://doi.org/10.1023/B:JAPH.0000047789.34883.aa>.

PENG, Y-Y. *et al.* Simultaneous removal of nutrient and sulfonamides from marine aquaculture wastewater by concentrated and attached cultivation of *Chlorella vulgaris* in an algal biofilm membrane photobioreactor (BFMPBR). **Science of the Total Environment**, v. 725, p. 138524, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138524>.

PULZ, O; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology Biotchnology**. v. 65, p. 635-648. 2004. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1647-x>.

QUEIROZ, M. I. *et al.* Fish processing wastewater as a platform of the microalgal biorefineries. **Biosystems Engineering**, v. 115, p. 195-202, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2012.12.013>.

RANGLOVÁ, K. *et al.* Rapid screening test to estimate temperature optima for microalgae growth using photosynthesis activity measurements. **Folia Microbiologica**, v. 64, p. 615 – 625, 2019.

RAVEN, J. A. Sensing pH?. **Plant, Cell & Environment**, v. 13, p. 721-729, 1990. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1990.tb01086.x>.

RIBEIRO, L. L. Robert *et al.* The experimental validation of a large-scale compact tubular microalgae photobioreactor model. **International Journal of Energy Research**, v. 41, p. 2221-2235, 2017. <https://doi.org/10.1002/er.3784>.

RICHMOND, A. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. In: Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges. Springer Netherlands, p. 33-37, 2004.

RODAS-ZULUAGA, L. I. *et al.* Bio-capture and influence of CO₂ on the growth rate and biomass composition of the microalgae *Botryococcus braunii* and *Scenedesmus* sp. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 43, p. 101371, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2020.101371>.

SANTOYO, S. *et al.* Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 7, p. 1213-1218, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.012>.

SATYANARAYANA, G. Kestur; MARIANO, B. André, VARGAS, V. C. José. A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials. **International Journal of Energy Research**, v. 35, p. 291-311, 2011. <https://doi.org/10.1002/er.1695>.

SCHERER, D. Marisa *et al.* Environmental evaluation of flocculation efficiency in the separation of the microalgal biomass of *Scenedesmus* sp. cultivated in full-scale photobioreactors. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 53, p 1-8, 2018. <https://doi.org/10.1080/10934529.2018.1470961>.

SCHERER, D. Marisa *et al.* Environmental study of producing microalgal biomass and bioremediation of cattle manure effluents by microalgae cultivation. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 19, p. 1745–1759. <https://doi.org/10.1007/s10098-017-1361-x>.

SCHROEDER, Luiza *et al.* Energy analysis of lipid extraction of *Scenedesmus* sp. produced in pilot scale. **Revista de Engenharia Térmica**, v. 4, p. 22-33, 2015. <http://dx.doi.org/10.5380/reterm.v14i1.62110>.

SELESU, F. H. Nelson *et al.* Maximum microalgae biomass harvesting via flocculation in large scale photobioreactor cultivation. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 94, p. 304-309, 2016. <https://doi.org/10.1002/cjce.22391>.

SILVA, G. Angela *et al.* Life cycle assessment of biomass production in microalgae compact photobioreactors. **Global Change Biology-Bioenergy**, v. 7, p. 184-194, 2015. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12120>.

SINGH, H. M. Bio-fixation of flue gas from thermal power plants with algal biomass: Overview and research perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 245, p. 519 – 539, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.01.043>.

SPOLAORE, P. *et al.* A. Commercial applications of microalgae: review. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, p. 87-96, 2006. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>

SUALI, E.; SARBATLY, R. Conversion of microalgae to biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 4316-4342, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.03.047>

SUGAI-GUÉRIOS, H. Maura *et al.* Mathematical model of the CO₂ solubilization reaction rates developed for the study of photobioreactors. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 92, p. 787-795, 2014. <https://doi.org/10.1002/cjce.21937>.

SUN, Y. *et al.* Optimizing light distributions in a membrane photobioreactor via optical fibers to enhance CO₂ photobiochemical conversion by a *Scenedesmus obliquus* biofilm. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 59, p. 21654-21662, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c03854>.

STODDARD, M. C. Mimicry and masquerade from the avian visual perspective. **Current Zoology**, v. 58, p. 630 – 648, 2012. <https://doi.org/10.1093/czoolo/58.4.630>.

TAHER. D. M., Biodiesel de microalgas cultivadas em dejetos suíno biodigerido. Dissertação de Mestrado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Editora Artmed. 3ª edição. Porto Alegre, 2006.

TANG, H. *et al.* Continuous microalgae cultivation in a photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, p. 2468-2474, 2012. <https://doi.org/10.1002/bit.24516>.

TASTAN, B. E. *et al.* Utilization of LGP and gasoline engine exhaust emissions by microalgae. **Journal of Hazardous Materials**, v. 246-247, p. 173-180, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.11.035>.

TELLES, C. Enio *et al.* A genset and mini-photobioreactor association for CO₂ capturing, enhanced microalgae growth and multigeneration. **Renewable Energy**, v. 125, p. 985-994, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.03.027>.

THOMPSON, P. A. GUO, M. HARRISON, P. J. Effects of variation in temperature: on the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton. **Journal of Phycology**, v. 28, p. 481-488, 1992. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1992.00481.x>.

TREDICI, M. R. Mass production of microalgae: photobioreactors. In: RICHMOND, A. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science, 2004. p. 178-214.

UDUMAN, N.; QI, Y.; DANQUAH, M. K. Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, p. 935-940, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2010.06.046>.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4021 – 4028, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.046>.

VARGAS, V. C. José *et al.* Mass transfer modeling and maximization of hydrogen rhythmic production from genetically modified microalgae biomass. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 101, p. 1-9, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2016.04.117>.

VARGAS, V. C. José *et al.* Modeling microalgae derived hydrogen production enhancement via genetic modification. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, p. 8101-8110, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.12.217>.

VARGAS, V. C. José *et al.* The microalgae derived hydrogen process in compact photobioreactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, p. 9588-9598, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.04.093>.

WANG, B. *et al.* CO₂ bio-mitigation using microalgae. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 79, p. 707 – 7018, 2008. DOI 10.1007/s00253-008-1518-y.

WANG, H. *et al.* The contamination and control of biological pollutants in mass cultivation of microalgae. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 745 – 750, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.158>.

WANG, H-Y.; BLUCK, D.; VAN WIE, B. J. Conversion of microalgae to jet fuel: Process design and simulation. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 349-357, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.092>.

WANG, J-H. *et al.* Microalgal attachment and attached systems for biomass production and wastewater treatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 92, p. 331-342, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.081>.

XIAOGANG, H. *et al.*, Microalgal growth coupled with wastewater treatment in open and closed systems for advanced biofuel generation. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01061-w>.

XU, H.; MIAO, X.; WU, Q. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. **Journal of Biotechnology**, v. 126, p. 499-507, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.05.002>.

YANG, C.; HUA, Q.; SHIMIZU, K. Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light-autotrophic/dark-heterotrophic conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 6, p. 87-102, 2000. [https://doi.org/10.1016/s1369-703x\(00\)00080-2](https://doi.org/10.1016/s1369-703x(00)00080-2).

YADAVALLI, R.; HEGGERS, G. R. V. N. Two stage treatment of dairy effluent using immobilized *Chlorella pyrenoidosa*. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, v. 11, 2013.

YANG, J. *et al.* Experimental study on microalgae cultivation in novel photobioreactor of concentric double tubes with aeration pores along tube length direction. **International Journal of Green Energy**, v. 14, p. 1269 – 1276, 2017. <https://doi.org/10.1080/15435075.2017.1402772>.

ZERIOUH, O. *et al.* Biofouling in photobioreactors for marine microalgae. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 37, p. 1006-1023, 2017. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1299681>.

ZHAO, B.; SU, Y. Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 31, p. 121-132. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.11.054>.

ZIMMERMAN, W. B. *et al.* Design of an airlift loop bioreactor and pilot scales studies with fluidic oscillator induced microbubbles for growth of a microalgae *Dunaliella salina*. **Applied Energy**, v. 88, p. 3357 – 3369, 2011. [10.1016/j.apenergy.2011.02.013](https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.02.013).

Autores

Beatriz Santos¹, Diego de Oliveira Corrêa^{1,*}, Nelson Fernando Herculano Selesu², Vanessa Merlo Kava³, André Bellin Mariano⁴, José Viriato Coelho Vargas⁵

1. Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável, Universidade Federal do Paraná, Av. Cel. Heráclito dos Santos, CEP 81531-980, Curitiba, Brasil.
2. Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná, Av. Cel. Heráclito dos Santos, CEP 81531-980, Curitiba, Brasil.
3. Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, Av. Cel. Heráclito dos Santos, CEP 81531-980, Curitiba, Brasil.
4. Departamento de Engenharia Elétrica, Universidade Federal do Paraná, Av. Cel. Heráclito dos Santos, CEP 81531-980, Curitiba, Brasil.
5. Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Paraná, Av. Cel. Heráclito dos Santos, CEP 81531-980, Curitiba, Brasil.

* Autor para correspondência: diego.biodoc@gmail.com

Potencial das microalgas na indústria farmacêutica

Juliana Mesadri, Roger Wagner, Mariane Bittencourt Fagundes

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c2>

Resumo

As microalgas são consideradas fontes confiáveis de compostos bioquimicamente ativos a serem potencialmente utilizadas como matéria-prima pela indústria farmacêutica. As microalgas possuem uma biomassa com elevada biodiversidade e variabilidade de composição química, além de elevada produtividade, de forma que também são conhecidas por serem fontes sustentáveis e renováveis. Dentre as espécies de microalgas, a *Chlorella* sp. é caracterizada por ser uma cepa eucariótica, e a *Spirulina* sp. como uma cepa procariótica, sendo atualmente destacada no mercado da indústria farmacêutica em termos de produção de compostos bioativos. Dentre os inúmeros compostos passíveis de serem extraídos, que apresentam potencial de exploração comercial estão os carotenoides, ácidos graxos poli-insaturados, ficobilinas, vitaminas, esteróis, polissacarídeos, e entre outros que podem ser estudados em sinergia, ou não. Desta forma, estes metabólitos podem estar atribuídos a atividades antibacterianas, antitumorais, antifúngicas e antivirais. Muitos compostos não convencionais das microalgas, são difíceis de sintetizar, logo o uso das biomassas permite a obtenção de substâncias de forma eficiente como precursores no desenvolvimento de fármacos. Os seus produtos são benéficos não apenas para o setor farmacêutico, mas também para a indústria de alimentos. Existem vários pontos da indústria em que as microalgas podem ser utilizadas, podendo destacar também o seguimento de suplemento alimentar, cosméticos e também podem ser utilizadas para a remediação e redução de tóxicos nas águas das indústrias farmacêuticas. Desse modo as microalgas, tanto seus extratos, quanto seus compostos isolados, podem ser utilizados nas diferentes formulações farmacêuticas.

Palavras-chave: biotecnologia, compostos bioativos, indústria farmacêutica, microalgas.

1. Introdução

As algas constituem um grupo de organismos com uma ampla diversidade morfológica, assim, cada espécie pode desempenhar diferentes funções. Dentre eles, se destacam as microalgas, que são micro-organismos fotossintéticos, classificados como unicelulares, ainda podem ser designadas em dois grupos estruturais: procarióticas, também conhecidas como as cianobactérias, e em eucarióticas, que englobam representantes nas divisões Chlorophyta, Euglenophyta, Rhodophyta, Haptophyta (Prymnesiophyta), Heterokontophyta (Bacillariophyceae, Chrysophyceae, Xantophyceae etc.), Cryptophyta e Dinophyta. (BICUDO e MENEZES, 2010; DERNER *et al.*, 2006). Ambos os grupos são considerados fontes potenciais de energia, combustível, alimentos e outros produtos de grande valor para a química fina (GARCIA *et al.*, 2017).

Existem mais de cinquenta mil tipos diferentes de espécies de microalgas presentes nos oceanos e na água doce (lagos, lagoas e rios), dentre as quais cerca de trinta mil já foram estudadas. As células microalgais podem variar de 0,2 a 2 μm e, quando se apresentam em formas filamentosas com tamanhos de 100 μm ou superiores. A maior parte dos estudos está associada com o uso das biomassas microalgais aplicadas em alimentos, sendo explorado há milhares de anos. Além disso as microalgas possuem a habilidade de converter energia solar em energia química fixando CO_2 (BULE *et al.*, 2018; FORZZA, 2010).

Em termos econômicos, embora já exista a aplicabilidade de algumas cepas no mercado, a produção comercial de microalgas é de aproximadamente 5.000 toneladas por ano de matéria seca. A maior parte da biomassa produzida é associada a alimentação, sendo cerca de nove décimos do cultivo de algas estão localizados na Ásia (BULE *et al.*, 2018). Assim, a exploração de microalgas para a produção ambiental e industrial de produtos naturais acaba por se tornar um grande setor em expansão.

2. Produção de compostos de interesse

Ao longo da história, as microalgas são empregadas para diversas finalidades, sendo a mais antiga, sua utilização para alimentação de humanos e animais (SIMÕES *et al.*, 2016). Atualmente, muitas microalgas cultivadas em condições específicas estão sendo vistas como alternativas viáveis para a produção de uma série de compostos nutracêuticos (GARCIA *et al.*, 2017).

Esses organismos têm potencial para coprodução de outras moléculas como pigmentos, proteínas, ácidos graxos poli-insaturados, e outros antioxidantes. Assim, as microalgas estão ganhando atenção como agentes terapêuticos para inúmeros distúrbios de saúde e outras aplicações nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica (BULE *et al.*, 2018). Ademais, as microalgas também podem sobreviver em condições adversas, ou seja, resistir ao calor, frio, radiação ultravioleta, salinidade e dessecação, devido à sua capacidade de se adaptar a mudanças fisiológicas, produzindo substâncias tolerantes ao estresse (PANGESTUTI *et al.*, 2018).

Os primeiros produtos comerciais provenientes de algas foram os polissacarídeos extraídos de macroalgas e utilizados como fonte de ficocolóides (ágar, carragenina e alginato). As microalgas, contudo, só entraram no mercado, para este tipo de aplicação no final do século passado, quando a tecnologia de cultivo deste organismo unicelular foi desenvolvida. Quatro espécies de microalgas (*Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella* e *Nannochloropsis*) atingiram o nível de produção em cultivo em larga escala aberto, enquanto que mais algumas espécies unicelulares foram ampliadas com sucesso em sistema de cultivo realizados em biorreatores fechados (BEN-AMOTZ, 2009).

Existem quatro principais tipos de técnicas de cultivo de microalgas: fotoautotrófico, heterotrófico, mixotrófico e fotoheterotrófico. Com base nessas técnicas de cultivo, novas tecnologias foram desenvolvidas para o cultivo microalgal as quais são atualmente aplicadas na produção de biomassa algal: tanques abertos, fotobiorreatores fechados e reatores de fermentação. Dentre os sistemas abertos, a utilização dos tanques rasos abertos se destaca pela quantidade de produção, onde o cultivo realizado pode variar de centenas a milhas de metros quadrados. No entanto, alguns inconvenientes deste tipo de cultivo ocorrem pela possibilidade de contaminação por outros organismos e/ou por outras espécies de microalgas. Desenvolvidos mais recentemente e tecnologicamente mais avançados, os sistemas fechados são mais adequados, como os fotobiorreatores, eles possuem as melhores condições para a produção de praticamente todas as espécies de microalgas, protegendo a cultura da contaminação de outros organismos e permitindo o controle das condições do cultivo (quantidade dos nutrientes, temperatura, iluminação, pH etc.), oferecendo melhor qualidade da biomassa gerada. Estes fotobiorreatores são planos ou

tubulares e podem adotar uma variedade de modelos e modos de operação, embora apresentem um maior custo de construção e operação em comparação aos sistemas abertos. Uma combinação de fotobiorreatores e tanques acessíveis vem sendo definidos como uma eficiente alternativa para maiores produtividades e custos relativamente acessíveis na produção das microalgas (DANTAS, 2013; DERNER *et al.*, 2006; SIMÕES *et al.*, 2016).

A biotecnologia microalgal ganhou importância nas últimas décadas e as suas aplicações variam da simples produção de biomassa para alimentação, como já comercial, a valiosos produtos para aplicações farmacêuticas. Para a maioria das aplicações, o mercado ainda está em desenvolvimento e seu uso se estendendo a novas áreas. Os avanços moleculares genéticos nas microalgas também têm um impacto profundo sobre o desenvolvimento de processos e tecnologias (SIMÕES *et al.*, 2016).

Com uma enorme biodiversidade de microalgas e recentes desenvolvimentos em engenharia genética, este grupo de organismos representa uma das fontes mais promissoras para novos ingredientes passíveis de serem aplicados em diversos produtos. Além disso, espera-se que esses produtos se tornem muito competitivos no mercado devido ao seu maior valor biológico, melhoria no processo de cultivo e menor custo de produção do que os produtos sintéticos (THIYAGARASAIYAR *et al.*, 2020).

3. Compostos bioativos microalgais

Existem milhares de compostos bioativos distribuídos em diferentes grupos químicos, os quais normalmente são metabólitos secundários, produzidos em pequenas quantidades principalmente pelo sistema de defesa. Por existirem milhares de biomoléculas, as mesmas podem apresentar diferentes funções metabólicas. As microalgas são uma rica fonte de compostos com atividade, os quais dentre estes destacam-se: os ácidos graxos da família ômega-3, carotenoides, fitosteróis, terpenos, compostos fenólicos e amino ácidos (PIMENTEL *et al.*, 2019).

Os compostos bioativos presentes em alimentos funcionais têm como local de ação alvos fisiológicos específicos, modulando a defesa antioxidante e de processos inflamatórios e mutagênicos (PIMENTEL *et al.*, 2019). A diversidade de compostos em microalgas chega a ser 10 vezes maior que em

plantas terrestres, e isto está associado à sua sobrevivência em condições adversas. A Tabela 1 apresenta os principais bioativos provenientes de microalgas no mercado e suas aplicações.

Tabela 1. Principais compostos bioativos no mercado, provenientes da biotecnologia microalgal.

Produtos		Principais Aplicações
Biomassa	Biomassa	Alimentos funcionais Alimentos naturais Aqüicultura Condicionador do solo
Compostos Fenólicos	Ácido Benzoico Ácido Cinâmico Polifenóis	Aditivos Alimentares Cosméticos Corantes
Pigmentos	Carotenos Xantofilas Ficobilinas Clorofilas	Aditivos Alimentares Cosméticos Corantes
Alcaloides	Feniletilamina Tiramina	Fármacos Pesquisa
Vitaminas e Minerais	Vitamina B1, B2, B6, niacina, folato, biotina, ácido pantotênico, C, D2, E e K Mineral potássio, cálcio, magnésio e selênio	Aditivos Alimentares
Ácidos Graxos	Ácido araquidônico - ARA Ácido eicosapentaenóico - EPA Ácido docosahexaenóico - DHA Ácido gama-linolênico – GLA Ácido linoléico – LA	Aditivos Alimentares
Enzimas	Superóxido dismutase – SOD Fosfoglicerato quinase – PGK Luciferase e Luciferina Enzimas de restrição	Pesquisa Medicina Fármacos
Polímeros	Polissacarídeos Amido Ácido poli-β-hidroxi-butírico - PHB Peptídeos Toxinas	Aditivos Alimentares Cosméticos Fármacos
Produtos Especiais	Prolina Arginina Ácido aspártico Esteróis	Aditivos Alimentares Fármacos Pesquisa

Fonte: Fonseca J. A., 2016; Gago A. S., 2016.

Com relação as moléculas lipídicas, os maiores estudos e aplicações estão associados aos ácidos graxos insaturados como ácido eicopentaenoico (EPA), α -linolêico (GLA), ácido araquidônico (ARA), e ácido docosaenoico (DHA). O uso de EPA ocorre em nutracêuticos, e anti-inflamatório. GLA e ARA possuem maior aplicação para problemas associados a vasoconstrição ocasionado por plaquetas, já o ácido DHA possui ampla aplicação como nutracêutico para crianças, pois está associado a auxílio no desenvolvimento cerebral (KUMAR *et al.*, 2019).

As vitaminas são outra importante classe de moléculas que vem sendo aplicada no mercado sendo que muitos destes compostos amplamente encontrados em microalgas, dentre estes os principais são: vitamina C, K, B12, A e α -tocopherol. O principal uso das vitaminas no mercado é como antioxidante, auxiliando no sistema imune, no entanto, outras inúmeras aplicações essas moléculas podem apresentar, como seu uso em probióticos como cofatores enzimáticos e outros (DUFOSSE, 2016).

Os pigmentos microalgais são consideradas moléculas bioativas de elevado interesse, dentre eles o carotenóide astaxantina destaca-se em produção pela microalga *Haematococcus pluvialis*, a qual também produz β -caroteno, ficocianina e ficoeritrina (FAGUNDES *et al.*, 2019). A luteína, zeaxantina e cantaxantina são carotenoides utilizados em indústrias farmacêuticas e podem provir de microalgas.

Os esteróis, são considerados metabólitos secundários microalgais e moléculas que possuem como precursor metabólico o esqualeno as cepas possuem habilidade de produzir tanto os fitoesteróis, como: stigmasterol e β -sitosterol, quanto compostos da classe dos zoosteróis como: lanosterol e colesterol (FAGUNDES *et al.*, 2019). No mercado atual os compostos mais explorados, são: Brassicaesterol e stigmasterol. Essas moléculas têm sido reportadas em estudos devido sua ação hipocolesterolêmica (RANDHIR *et al.*, 2020), entre outros. Além disso, muitas pesquisas relataram que outros metabólitos secundários derivados de microalgas, como fucoidan, fucoxantina, polissacarídeo sulfatado, polifenol e fucosterol demonstram efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes, anticâncer e antibacterianos (THIYAGARASAIYAR *et al.*, 2020).

Estes são alguns dos principais ativos provenientes de cepas microalgais, sendo que vários outros ativos podem ser explorados e serão abordados nos tópicos abaixo.

4. Principais aplicabilidades dos metabólitos microalgais

Muitos compostos não convencionais das microalgas, são difíceis de serem sintetizados quimicamente, então o uso dessas biomassas como fonte dessas biomoléculas de forma direta e eficiente. As microalgas podem ser utilizadas em vários pontos da indústria, pois elas possuem potencial não apenas para fármacos e cosméticos, mas também para o seguimento de suplementação alimentar. Ou seja, seus produtos são benéficos para setor farmacêutico e também para a indústria de alimentos (DERNER, 2006; PIMENTEL, 2019).

O termo “nutracêutico” foi criado em 1989 pela Fundação para Inovação em Medicina (Nova York, EUA). Logo, um nutracêutico é considerado um alimento funcional, pois de forma geral, entende-se que aqueles alimentos que contêm um ou mais compostos com impacto positivo na saúde, conhecidos como substâncias bioativas, possuem ação metabólica ou fisiológica específica no organismo humano (PEDROSA, 2015). Estes compostos podem variar de nutrientes isolados, suplementos dietéticos e dietas a alimentos “projetados” geneticamente modificados, produtos fitoterápicos e produtos processados, como cereais, sopas e bebidas (BISSON, 2020). A legislação brasileira não reconhece oficialmente o termo nutracêuticos, entretanto, define substância bioativa, que é a definição oficial mais compatível (PEDROSA, 2015).

As autoridades de saúde pública consideram a prevenção e o tratamento com produtos nutracêuticos um poderoso instrumento para manter a saúde e agir contra doenças agudas e crônicas induzidas nutricionalmente, promovendo assim saúde, longevidade e qualidade de vida ideais (BISSON, 2020). Enquanto os nutracêuticos são feitos a partir de alimentos ou de parte de um alimento, os suplementos alimentares, constituem outra categoria de alimentos funcionais, as quais são substâncias isoladas usadas sozinhas ou em misturas com o objetivo de adicionar micronutrientes quando o corpo necessita delas (PIMENTEL *et al.*, 2019). Os nutracêuticos extraídos de fontes vegetais (fitocomplexos) ou que são o complexo metabólito ativo (se de origem animal) devem ser entendidos como um conjunto de substâncias farmacologicamente ativas com propriedades

terapêuticas inerentes devido a seus princípios ativos naturais de eficácia reconhecida. Devem ser administrados na forma farmacêutica apropriada (p. ex., cápsulas, comprimidos, soluções, xaropes etc.) (BISSON, 2020).

Nesse sentido mercado de nutracêuticos de microalgas é dominado por duas cianobactérias, universalmente conhecidas como *Spirulina* e *Klamath*, além da espécie clorofícea *Chlorella*. Hoje em dia, a *Spirulina* é utilizada em suplementos alimentares, na forma de comprimidos, isoladamente ou em associação com outras algas ou extratos de plantas, para uso humano ou animal (VIEIRA *et al.*, 2020).

A *Spirulina* é considerada uma boa fonte de diversos nutrientes, apresentando um teor de proteína alto com uma composição aminoacídica balanceada, tornando-a desejável como um suplemento alimentar. Adicionalmente, a biomassa dessa microalga apresenta um teor de óleo elevado e alta qualidade, apresentando os ácidos graxos α -linolênico (ALA), linoléico (LA), ácido estearidônico (SDA), EPA, DHA e AA. Além disso, o seu conteúdo em vitaminas, como as do grupo B, principalmente a B12, e a vitamina E, é considerado relevante e completo. A *Spirulina* também é valorizada pela presença de diversos minerais, como potássio, cálcio, magnésio e selênio (GROSSHAGAUER *et al.*, 2020; NICOLETTI, 2016).

A *Chlorella* possui uma grande variedade de nutrientes presentes. A quantidade de proteínas nos seus produtos é considerada de alta ou boa qualidade, estudos indicam o perfil de aminoácidos dessa cepa possui todos os aminoácidos essenciais para humanos (arginina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e histidina). Algumas de suas espécies podem possuir até 65% da sua composição de carboidratos como fibras alimentares. Sua composição de óleo se destaca por possuir ácido α -linolênico e ácido linoléico, possuindo aproximadamente 65-70% do total de ácidos graxos encontrados como ácidos graxos poli-insaturados. Em relação as vitaminas, possui todas as necessárias por humanos, ou seja, B1, B2, B6, B12, niacina, folato, biotina, ácido pantotênico, C, D2, E e K, e α - e β -carotenos (BITO *et al.*, 2020).

Tanto a *Spirulina* quanto a *Chlorella* tem sido comercializada com apelos de superalimento ou comida do futuro. Diversas atividades são relatadas e em parte confirmadas por diferentes tipos de experimentos e ensaios clínicos. Dessa

forma, essas atividades são dependentes das composições químicas das biomassas, conseqüentemente dependem de diferentes condições de cultivo, como temperatura, composição de nutrientes e disponibilidade de luz, que podem alterar os níveis de macro e micronutrientes e outros bioativos, como antioxidantes, presentes na biomassa (BITO *et al.*, 2020; NICOLETTI, 2016).

Além do elevado potencial para suplementação alimentar, as algas também apresentam elevado potencial de utilização na indústria cosmética (FONSECA, 2016). Nestas aplicações podem utilizar a denominações de fitocosméticos, por serem naturais e/ou orgânicos. Os ativos podem ser apresentados na forma de um extrato, óleo ou óleo essencial, e correspondem a um segmento da ciência cosmetológica que se dedica ao estudo e à aplicação dos extratos e princípios ativos obtidos dos vegetais em proveito da higiene, estética, correção e manutenção de um estado normal e sadio da pele (SIMÃO, 2019).

A aplicação dos extratos de microalgas nesse setor industrial não é recente e já se encontram no mercado diversos produtos derivados principalmente de *Chlorella vulgaris* e *Spirulina sp.* Na cosmética, a aplicação das algas está muito direcionada principalmente para o tratamento cutâneo, com distintas apresentações no mercado, como cremes antienvelhecimento, regeneradores, anti-irritantes, adelgaçantes, antirrugas, preventores de estrias, proliferadores celulares e esfoliantes. Alguns de seus compostos possuem um mecanismo de ação que estimula a síntese de colágeno da pele, trazendo mais flexibilidade e, assim, reduzindo as rugas. Também existem protetores solares para a pele ou para o cabelo que usam extratos de algas para proteção contra as radiações UVA e UVB. Os fitocosméticos que contêm microalgas ou seus extratos estão em pleno crescimento, especialmente quando combinado com outros antioxidantes ou bioativos, para proteger a pele (FONSECA, 2016; VASCONCELOS *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2017).

As microalgas ainda apresentam compostos fotoprotetores, como os aminoácidos tipo micro porinas (chinorina, palatina, asterina e palitinol), que podem ser aplicados na produção de bloqueadores solares, além de compostos antioxidantes que protegem a pele contra as agressões das radiações solares (FONSECA, 2016). Além desses compostos, outro em destaque é a astaxantina, que se classifica como um carotenoide, e protege as células da foto-oxidação.

As algas expostas às radiações ultravioletas produzirão compostos de triagem ultravioleta, como os aminoácidos semelhantes à micro porina (MAA), que atuaram como antioxidantes e envolvidos nas regulações osmóticas. Além disso, algas expostas à alta radiação solar e baixa concentração de nitrogênio produzem mais carotenos, como *Dunaliella*. Assim, algas naturalmente expostas ao estresse oxidativo desenvolvem sistemas de defesa que as protegem contra espécies reativas de oxigênio (ROS) e radicais livres. Esses compostos podem ser usados em cosméticos para proteger as células contra os efeitos adversos da radiação UV (THIYAGARASAIYAR *et al.*, 2020). Outro carotenoide que tem sido associado a capacidade de neutralizar o estresse oxidativo causado pela radiação UV é a fucoxantina, sendo, portanto, aplicável em fitocosméticos (WANG *et al.*, 2015).

Os pigmentos microalgais, além da indústria cosmética encontraram mercado também na indústria de alimentos como corantes e, se destacaram em relação aos pigmentos sintéticos por serem atóxicos e não cancerígenos. Como os humanos não os sintetizam, os pigmentos de microalgas têm sido empregados tanto como corantes naturais quanto como suplementos alimentares (VENDRUSCOLO *et al.*, 2020). Estudos evidenciaram que a astaxantina pode suprimir a hiperpigmentação da pele, através da inibição da síntese de melanina, e melhorar o estado de todas as camadas da pele, quer através da sua aplicação tópica, quer oral (FONSECA, 2016).

É provável que esses organismos sejam capazes de abastecer a indústria de cosméticos com ambas as ficobilinas e carotenoides, que significa que uma ampla gama de cores azul, amarelo, laranja e vermelho será coberta. Os tetras pirróis chamados ficobilinas representam os principais pigmentos acessórios fotossintéticos das cianobactérias e algas eucarióticas pertencentes à grupos Glaucófitas, Cristófitas e Rodófitas. Esses pigmentos são proteínas ligadas covalentemente, chamadas ficobiliproteínas, que são, em geral, organizados em ficobilissomos nas membranas tilacóides. Várias espécies de cianobactérias foram relatadas por serem fontes dessa ficocianina, como *Arthrospira platensis* (*Spirulina*), *Arthrospira maxima*, *Pyrophyridium* sp. e *Synechocystis* (COTEAU e COIFFARD, 2020).

5. Perspectivas e aplicações futuras

A aplicação das microalgas na indústria vai além de compostos nutracêuticos e suplementos alimentares. Dianursanti *et al.*, 2020 estudaram a *Spirulina* como substituinte do colágeno para matéria prima do invólucro de cápsulas, devido a presença de polihidroxibutirato (PHB) em sua composição. Este polímero atua como agente de liberação de fármacos e prolonga a dissolução dos fármacos, melhorando o desempenho do fármaco na hora da liberação no intestino. Os resultados mostraram-se promissores, a cápsula feita com 3% (p/v) de concentração de *Spirulina platensis* se mantém em condição ácida em pH 1,2 por 75 minutos, com liberação de 61,3% dos medicamentos, depois em pH 4,5 por 120 segundos e liberação de 54,9% dos medicamentos e também em pH 6,8 por 240 segundos, liberando 89,6% dos medicamentos.

Outro campo novo de aplicações para microalgas é a produção de vacinas. Em sua pesquisa, Ramos-Vega *et al.* (2021) selecionaram antígenos com base em seus efeitos protetores através de estudos realizados com ferramentas *in-silico*. O projeto foi focado no tipo de antígeno e sua localização celular. Devido as novas e várias ferramentas de engenharia genética desenvolvidas, as células microalgais como *pró-hosts* de produção têm várias vantagens, assim, essa plataforma pode ser usada para purificar antígenos para formulações injetáveis ou como um hospedeiro de entrega para administração mucosa. A última abordagem é útil, uma vez que os antígenos podem ser encapsulados, evitando a cadeia de frio. Hoje em dia, vários antígenos têm sido produzidos em uma grande quantidade de espécies microalgais contra doenças infecciosas para animais e humanos. Em humanos, antígenos promissores têm sido pesquisados em microalgas para combater doenças causadas pelo Vírus da imunodeficiência humana, vírus do papiloma humano, Influenza, hepatite B, Ebola, Zika vírus, *Staphylococcus aureus* e *Plasmodium falciparum*. Em animais, os protótipos de vacinas feitas com microalgas foram direcionados para combater os vírus da peste suína clássica, vírus da febre aftosa, vírus da síndrome da mancha branca, vírus da doença Gumboro, Vibriose e *Histophilus somni*. Em comparação com outras espécies de microalgas, a espécie *Chlamydomonas reinhardtii* tem sido a mais utilizada, uma vez que já existem as ferramentas de engenharia biotecnológica necessárias para a produção das vacinas. No entanto, cada espécie de microalga tem características atraentes

que devem ser pesquisadas para serem introduzidas nesse setor. Os resultados da pesquisa têm demonstrado que as microalgas podem produzir antígenos com dobramento adequado e níveis suficientes de rendimento para se tornarem imunogênicas em pré-estudos clínicos. Apesar dos esforços feitos na produção de vacinas, os ensaios clínicos estão pendentes para testar a imunogenicidade, segurança e eficácia.

Outro campo em ascensão para aplicabilidade tem se destacado pela inovação, é para a regeneração de pele. Devido a composição da biomassa microalgal, as mesmas vêm sendo aplicadas em estudos associados a feridas cutâneas e demonstrado efeitos positivos frente a rápida cicatrização. Conforme destacado no estudo publicado por Miguel *et al.* (2021), os potenciais efeitos benéficos dos carotenoides, ácidos graxos poli-insaturados, polissacarídeos foram relatados em aplicações de cicatrização de feridas devido às suas diferentes atividades biológicas. Os extratos realizados com o gênero de microalgas verdes, de *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Tetraselmis*, *Haematococcus* e *Nannochloropsis* são os mais comumente usados para regeneração da pele. Os autores observaram ainda que a presença de compostos de microalgas em formulações curativas diminui os processos de estresse oxidativo, reduz a inflamação e infiltração de células pró-inflamatórias e secreção de citocinas, evitando a colonização do microrganismo no local da ferida, que é de extrema importância para melhorar o processo de cicatrização de feridas.

Os autores Fagundes *et al.* (2021) observaram o potencial do extrato rico em fitoesteróis atuar como neuroprotetor, devido a inibição da enzima acetilcolina esterase, uma das enzimas chave na doença de Alzheimer, neste mesmo trabalho o extrato foi responsável por inibir também a lipoxigenase, demonstrando ter efeito também de redução do processo inflamatório.

6. Desafios na aplicabilidade

Os desafios na aplicação de compostos bioativos de algas estão relacionados com as formas de extração de componentes funcionais, devido ao custo elevado de energia e produção, muitas vezes sendo necessário a aplicação de tecnologias emergentes para o processo extrativo, como exemplo: o uso de extrações assistidas por ultrassom, extrações com micro-ondas ou líquidos pressurizados, entre outros. Nesse sentido, surge a necessidade de

desenvolver processos com baixo custo, tais problemas podem ser superados através de estudos científicos para novos processos visando sempre uma melhor viabilidade econômica (JHA *et al.*, 2017; SAVIO *et al.*, 2021).

Logo, a falta de informação sobre a ecologia, fisiologia e os diferentes cultivos microalgais é um fator crítico, principalmente quando não há informações concretas sobre o metabólito responsável pela bioatividade observada para novos medicamentos e devido à falta de informações sobre os genomas e mecanismo de regulação gênica de compostos bioativos em algas, ainda existem grandes restrições e limitações que impedem o desenvolvimento deste tipo de pesquisa (SAVIO *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2017).

7. Referências

ABIDIZADEGAN, Maryam; PELTOMAA, Elina; BLOMSTER, Jaanika. The potential of cryptophyte algae in biomedical and pharmaceutical applications. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 2020.

APONE, Fabio; BARBULOVA, Ani; COLUCCI, Maria Gabriella. Plant and microalgae derived peptides are advantageously employed as bioactive compounds in cosmetics. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 756, 2019.

BARONI, Luciana *et al.* Effect of a Klamath algae product (“AFA-B12”) on blood levels of vitamin B12 and homocysteine in vegan subjects: a pilot study. **International journal for vitamin and nutrition research**, v. 79, n. 2, p. 117-123, 2009.

BILAL, Muhammad *et al.* High-value compounds from microalgae with industrial exploitability—A review. **Front Biosci**, v. 9, n. 3, p. 319-342, 2017.

BITO, Tomohiro *et al.* Potential of *Chlorella* as a Dietary supplement to promote human health. **Nutrients**, v. 12, n. 9, p. 2524, 2020.

BULE, Mohammed Hussien *et al.* Microalgae as a source of high-value bioactive compounds. **Front. Biosci**, v. 10, p. 197-216, 2018.

COUTEAU, Céline; COIFFARD, Laurence. Phycocosmetics and other marine cosmetics, specific cosmetics formulated using marine resources. **Marine drugs**, v. 18, n. 6, p. 322, 2020.

DA SILVA VAZ, Bruna *et al.* Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 73-77, 2016.

DANTAS, Danielli Matias de Macêdo. Atividade biológicas das preparações obtidas das clorofíceas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus subspicatus* Chodat e suas potenciais aplicações biotecnológicas. 2013. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco.

DERNER, Roberto Bianchini *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1959-1967, 2006.

DIANURSANTI; SARI, Putri R.; ALIFIA, Kanya CH. Utilization of microalgae *Spirulina platensis* as a raw material for making capsule shell. In: AIP Conference Proceedings. **AIP Publishing LLC**, 2020. p. 040025.

DUFOSSÉ, Laurent. Current and potential natural pigments from microorganisms (bacteria, yeasts, fungi, microalgae). In: Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages. **Woodhead Publishing**, 2016. p. 337-354.

FAGUNDES, Mariane Bittencourt *et al.* Insights in cyanobacteria lipidomics: A sterols characterization from *Phormidium autumnale* biomass in heterotrophic cultivation. **Food Research International**, v. 119, p. 777-784, 2019.

FAGUNDES, Mariane Bittencourt *et al.* Green microsaponification-based method for gas chromatography determination of sterol and squalene in cyanobacterial biomass. **Talanta**, v. 224, p. 121793, 2021.

FAGUNDES, Mariane Bittencourt *et al.* Phytosterol-rich compressed fluids extracts from *Phormidium autumnale* cyanobacteria with neuroprotective potential. **Algal Research**, v. 55, p. 102264, 2021.

FONSECA, Juliana Azevedo. Aplicação de Algas na Indústria Alimentar e Farmacêutica. 2016. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto.

FORZZA, RC., org., *et al.* Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Catálogo de plantas e fungos do Brasil [online]. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. 871 p. Vol. 1.

FU, Weiqi *et al.* **Bioactive compounds from microalgae: Current development and prospects.** In: Studies in natural products chemistry. Elsevier, 2017. p. 199-225.

GAGO, Alexandre da Silva. Compostos bioativos de microalgas com interesse no tratamento da diabetes. 2016. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular e Microbiana) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve

GARCÍA, José L.; DE VICENTE, Marta; GALÁN, Beatriz. Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. **Microbial biotechnology**, v. 10, n. 5, p. 1017-1024, 2017.

GROSSHAGAUER, Silke; KRAEMER, Klaus; SOMOZA, Veronika. The true value of *Spirulina*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 68, n. 14, p. 4109-4115, 2020.

JACOB-LOPES, Eduardo *et al.* Bioactive food compounds from microalgae: An innovative framework on industrial biorefineries. **Current Opinion in Food Science**, v. 25, p. 1-7, 2019.

JHA, Durga *et al.* Microalgae-based Pharmaceuticals and Nutraceuticals: An Emerging Field with Immense Market Potential. **ChemBioEng Reviews**, v. 4, n. 4, p. 257-272, 2017.

KIM, Ji Hye *et al.* Beneficial effects of marine algae-derived carbohydrates for skin health. **Marine drugs**, v. 16, n. 11, p. 459, 2018.

KUMAR, B. Ramesh *et al.* Microalgae as rich source of polyunsaturated fatty acids. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 17, p. 583-588, 2019.

LUO, Xuan; SU, Peng; ZHANG, Wei. Advances in microalgae-derived phytosterols for functional food and pharmaceutical applications. **Marine drugs**, v. 13, n. 7, p. 4231-4254, 2015.

MIGUEL, Sónia P. *et al.* Application of microalgae and microalgal bioactive compounds in skin regeneration. **Algal Research**, v. 58, p. 102395, 2021.

MOROCHO-JÁCOME, Ana Lucía *et al.* (Bio) Technological aspects of microalgae pigments for cosmetics. **Applied Microbiology and Biotechnology**, p. 1-10, 2020.

MOSHOOD, Taofeeq D.; NAWANIR, Gusman; MAHMUD, Fatimah. **Microalgae biofuels production**: A systematic review on socioeconomic prospects of microalgae biofuels and policy implications. *Environmental Challenges*, p. 100207, 2021.

NICOLETTI, Marcello. Microalgae nutraceuticals. **Foods**, v. 5, n. 3, p. 54, 2016.

PANGESTUTI, Ratih; SIAHAAN, Evi Amelia; KIM, Se-Kwon. Photoprotective substances derived from marine algae. **Marine drugs**, v. 16, n. 11, p. 399, 2018.

PEDROSA, Gabriela Costa *et al.* Alimentos funcionais: legislação, comparações e um olhar sobre o café. 2015. Monografia (Especialização em Farmacologia) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Minas Gerais

PÉREZ, Jessy Pavón *et al.* Current analytical techniques for the characterization of lipophilic bioactive compounds from microalgae extracts. **Biomass and Bioenergy**, v. 149, p. 106078, 2021.

PIMENTEL, Carolina Vieira de Mello Barros; ELIAS, Maria Fernanda; PHILIPPI, Sonia Tucunduva. **Alimentos funcionais e compostos bioativos**. [S.l.: s.n.], 2019.

RAMOS-VEGA, Abel *et al.* Microalgae-made vaccines against infectious diseases. **Algal Research**, v. 58, p. 102408, 2021.

RANDHIR, Ankitha *et al.* Microalgae: a potential sustainable commercial source of sterols. **Algal Research**, v. 46, p. 101772, 2020.

RIBEIRO, Michele Caldeira Magdalena. Produção de biofármacos por microalgas: mapeamento tecnológico, avaliação e caracterização de extratos com efeito antiviral sobre o vírus *Mayaro*. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro.

RIGHI, Valeria *et al.* Mycosporine-like amino acids and other phytochemicals directly detected by high-resolution NMR on Klamath (*Aphanizomenon flos-aquae*) blue-green algae. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 64, n. 35, p. 6708-6715, 2016.

SAIDE, Assunta *et al.* Unlocking the Health Potential of Microalgae as Sustainable Sources of Bioactive Compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 4383, 2021.

SAMI, Neha; AHMAD, Rakhshan; FATMA, Tasneem. Exploring algae and cyanobacteria as a promising natural source of antiviral drug against SARS-CoV-2. *Biomedical Journal*, 2020.

SATHASIVAM, Ramaraj *et al.* Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 4, p. 709-722, 2019.

SAVIO, Saverio; CONGESTRI, Roberta; RODOLFO, Carlo. Are we out of the infancy of microalgae-based drug discovery?. **Algal Research**, v. 54, p. 102173, 2021.

SIMÕES, Mirela Assunção *et al.* **Algas cultiváveis e sua aplicação biotecnológica** (recurso eletrônico). Aracaju: IFS, 2016.

SINGH, Shailendra Kumar *et al.* **Biotechnological exploitation of cyanobacteria and microalgae for bioactive compounds**. In: *Biotechnological Production of Bioactive Compounds*. Elsevier, 2020. p. 221-259.

TANG, Doris Ying Ying *et al.* Potential utilization of bioproducts from microalgae for the quality enhancement of natural products. **Bioresource technology**, v. 304, p. 122997, 2020.

THIYAGARASAIYAR, Krishnapriya *et al.* Algae metabolites in cosmeceutical: An overview of current applications and challenges. **Marine drugs**, v. 18, n. 6, p. 323, 2020.

VIEIRA, Marta V.; PASTRANA, Lorenzo M.; FUCIÑOS, Pablo. Microalgae Encapsulation Systems for Food, Pharmaceutical and Cosmetics Applications. **Marine drugs**, v. 18, n. 12, p. 644, 2020.

WANG, Hui-Min David *et al.* Exploring the potential of using algae in cosmetics. **Bioresource technology**, v. 184, p. 355-362, 2015.

WANG, Hui-Min David *et al.* Potential biomedical applications of marine algae. **Bioresource technology**, v. 244, p. 1407-1415, 2017.

Autores

Juliana Mesadri*, Roger Wagner, Mariane Bittencourt Fagundes.

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.

*Autor para correspondência: juliana_mesadri@hotmail.com

CAPÍTULO 3

Microalgas na agricultura moderna: Utilização do extrato de *Desmodesmus subspicatus* na propagação *in vitro* da orquídea *Cattleya warneri*

Diego de Oliveira Corrêa, Beatriz Santos, Luciana Lopes Fortes Ribas, Érika Amano, Rogério Mamoru Suzuki, Miguel Daniel Noseda

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c3>

Resumo

Um dos maiores desafios contemporâneos da humanidade consiste no equilíbrio entre o desenvolvimento de novas tecnologias e a conservação ambiental sem a sobre-exploração dos recursos naturais, o que coloca a agricultura no centro dessa discussão. Dessa forma, o uso das microalgas como bioestimulantes pode levar as culturas a desenvolver maior tolerância aos estresses bióticos e abióticos; aumentar a assimilação de nutrientes e minerais; melhorar a resistência a patógenos; e maximizar o crescimento das raízes e brotos, melhorando o crescimento, qualidade e produtividade das plantas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade bioestimulante do extrato aquoso da microalga *Desmodesmus subspicatus* na propagação *in vitro* da orquídea *Cattleya warneri*, através da suplementação do meio de cultura para germinação assimbiótica e produção de mudas. A germinação assimbiótica das sementes de orquídea e a produção de mudas foram positivamente afetadas pela adição do extrato no meio de cultura, promovendo a obtenção de protocormos e plântulas em estádios de desenvolvimento mais adiantados do que nos tratamentos controle. A presença da citocinina cinetina ribosídeo nos protocormos e de ácido abscísico nas plantas indica que o extrato foi capaz de modular a produção de fitormônios nas orquídeas, influenciando a velocidade dos processos de morfogênese. A análise dos resultados permite inferir que os efeitos são devidos a interações sinérgicas entre as moléculas do extrato, reforçando o potencial uso das microalgas na obtenção de compostos com atividade bioestimulante vegetal.

Palavras-chave: agricultura sustentável, bioestimulante vegetal, fitormônios, microalgas, orquídeas, propagação *in vitro*.

1. Introdução

Um dos maiores desafios contemporâneos da humanidade consiste no equilíbrio entre o desenvolvimento de novas tecnologias e a conservação ambiental sem causar a sobre-exploração dos recursos naturais, o que coloca a agricultura no centro dessa discussão. Desta forma, o desenvolvimento de novas tecnologias de produção agrícola sustentável tem se mostrado como uma ferramenta de grande relevância. Técnicas alternativas como o uso de substâncias que atuam na promoção do crescimento e desenvolvimento vegetal têm resultado no aumento da produtividade e melhoria da qualidade em diversos cultivos (CASTRO; VIEIRA, 2001).

O uso de compostos de origem natural vem sendo considerado uma alternativa rentável e sustentável ao uso de fertilizantes sintéticos. Sua utilização tem por objetivo melhorar qualitativa e quantitativamente a produtividade das culturas, bem como diminuir a poluição e os impactos ambientais associados ao uso de fertilizantes sintéticos (SPINELLI *et al.*, 2009; MORAES, 2015; SCAGLIA *et al.*, 2017). A utilização de compostos orgânicos com atividade bioestimulante vegetal tem ganhado cada vez mais espaço nesse cenário de agricultura orgânica, embora sua definição ainda seja alvo de discussão na comunidade científica. De acordo com du Jardin (2015), os bioestimulantes podem ser definidos como substâncias ou micro-organismos que produzem o aumento da eficiência nutricional, tolerância ao estresse abiótico, e melhoram as características de qualidade das culturas alvo, independentemente de seu conteúdo nutricional.

Compostos com atividade bioestimulante podem ser aplicadas diretamente nas plantas (folhas ou frutos) ou em sementes, e apresentam capacidade de promover ou modificar os processos morfológicos e fisiológicos a fim de aumentar a produtividade dos cultivos em diferentes estágios de desenvolvimento (MORAES, 2015). O uso de bioestimulantes pode levar a uma maior tolerância aos estresses bióticos e abióticos nas plantas; aumentar a assimilação de nutrientes e minerais; melhorar a resistência a patógenos; e maximizar o crescimento das raízes e brotos, melhorando o crescimento, qualidade e produtividade da planta (CALVO *et al.*, 2014; SCAGLIA *et al.*, 2017).

Diversos produtos de origem vegetal têm sido comercializados como biofertilizantes e bioestimulantes agrícolas (POVH, 2008; BATTACHARYYA *et*

al., 2015). Esses produtos possuem diferentes variações em sua composição e podem ser compostos por reguladores vegetais; aminoácidos e peptídeos derivados de hidrolisados proteicos; macro e micronutrientes; vitaminas; substâncias húmicas; extratos de macro e microalgas; e inoculantes com microrganismos (CALVO, *et al.*, 2014; CANELLAS *et al.*, 2015; COLLA *et al.*, 2015; MORAES, 2015).

Nas microalgas, a atividade bioestimulante é associada à presença de diferentes substâncias como aminoácidos e peptídeos (JIE *et al.*, 2008; RAMOS-SUÁREZ *et al.*, 2014); proteínas, polissacarídeos, vitaminas e minerais (PRIYADARSHANI; RATH, 2012; CHEW *et al.*, 2017); e especialmente à presença de diferentes classes de fitormônios (LU; XU, 2015). Embora os processos de biossíntese e ação dos fitormônios e outros reguladores de crescimento em plantas sejam muito bem descrito na literatura (SANTNER *et al.*, 2009), nas microalgas o seu papel fisiológico, efeitos endógenos e vias metabólicas ainda não são bem conhecidas (BAJGUZ, 2009; TARAKHOVSKAYA *et al.*, 2007; STIRK; VAN STADEN, 2010; LU *et al.*, 2014; LU; XU, 2015). Além dos fitormônios, as microalgas produzem outros compostos aminados que podem influenciar no crescimento e desenvolvimento de plantas (CAZZANIGA *et al.*, 2014; BURCZYK *et al.*, 2014).

Além da utilização das microalgas como bioestimulante e/ou biofertilizante para produção de alimentos, outro setor que ganha destaque é a utilização da biomassa e seus compostos na propagação *in vitro* de espécies ameaçadas, ou de forte apelo comercial, como as orquídeas. A germinação assimbiótica *in vitro* de orquídeas é uma ferramenta fundamental para o desenvolvimento de estratégias que possibilitem aumento da produtividade para atender ao mercado de flores de corte, bem como podem oportunizar novas estratégias de conservação de espécies ameaçadas de extinção, através da reprodução *in vitro* e posterior reintrodução na natureza. Por essa razão, a utilização de compostos de origem natural que possam ser utilizados como aditivos ao meio de cultura se mostram como alternativas que devem ser melhor exploradas. Vários trabalhos evidenciaram a utilização de água de coco, extratos vegetais como aditivos ao meio de cultura (MERCADO; CONTRERAS, 2017; UTAMI; HARIYANTO, 2020).

Um dos fatores que contribui para o status de vulnerabilidade das orquídeas são suas características reprodutivas, que incluem a formação de sementes microscópicas que não apresentam tecido de reserva para nutrição embrionária, o que resulta na necessidade de interações com fungos micorrízicos para promover sua germinação (GUPTA, 2016). Em função dessas características reprodutivas, a propagação *in vitro* de orquídeas é uma alternativa eficiente para produção de mudas, permitindo um maior número de plântulas e acelerando assim o processo de produção, o seu desenvolvimento ocorre mais rapidamente e fornecem mudas de melhor qualidade, mais uniformes e livres de doenças (SCHNEIDER *et al.*, 2014).

Na germinação assimbiótica, as sementes são colocadas em meios de cultura contendo os macro e micronutrientes necessários ao seu desenvolvimento, bem como vitaminas e uma fonte de carbono orgânico para nutrição do embrião. Após a germinação, formam-se os protocormos que posteriormente irão formar a plântula (YEUNG, 2017). Os protocolos de germinação e produção de mudas dependem de meios de cultura específicos, muitas vezes dependendo da adição de reguladores vegetais sintéticos, o que torna os procedimentos muito onerosos financeiramente. Nesse contexto, as microalgas representam uma nova opção de suplemento alternativo composição do meio de cultura.

Pereira *et al.* (2018) testaram o efeito da adição da microalga *Chlorella sorokiniana*, no meio de cultura WPM, suplementado com BAP (benzilaminopurina) e AIB (ácido indolbutílico) e verificaram a influência na multiplicação e enraizamento *in vitro* de *Schomburgkia crispa*. Para a indução de brotos foi recomendado o meio suplementado somente com 22,19 μM de BAP, enquanto a adição de 12,26 μM de AIB com extrato de microalgas estimulou o enraizamento *in vitro*. Corbellini *et al.* (2020) avaliaram a efeito da biomassa e do extrato aquoso de *Messastrum gracile* e *Chlorella vulgaris* na propagação *in vitro* de *Cattleya labiata* através da técnica *thin cell layer* (TCL) e demonstraram que ambos os aditivos foram efetivos na formação de plantas, substituindo a adição de reguladores vegetais ao meio de cultura.

Em face ao potencial uso das microalgas como fonte de compostos com atividade bioestimulante e o crescente interesse na utilização desses microrganismos para o desenvolvimento de técnicas e produtos para uma

agricultura mais sustentável, o objetivo desse trabalho foi avaliar a suplementação do meio de cultura para propagação *in vitro* e produção de mudas da orquídea *Cattleya warneri* com o extrato aquoso da microalga *Desmodesmus subspicatus*.

2. Materiais e Métodos

2.1. Extrato aquoso da microalga *Desmodesmus subspicatus*

O extrato utilizado como aditivo no meio de cultura para propagação de *C. warneri* foi obtido da biomassa de *D. subspicatus* produzida em fotobiorreator sob condições fotoautotróficas durante 14 dias de cultivo e recuperada por floculação utilizando quitosana como agente floculante. O extrato aquoso continha 16,5% de proteínas, 22% de carboidratos e cerca de 33% de sais inorgânicos. Análises de RMN ¹³C indicaram a presença de unidades monossacarídicas de glucose, galactose e manose, além da presença dos glicosídeos sulfoquinovosil-glicerol, monogalactosil-glicerol e digalactosil-glicerol. Análise de HPLC-MS demonstrou ainda a presença dos fitormônios *trans*-zeatina (45,8 ng mg⁻¹) e traços de ácido abscísico.

2.2. Germinação assimbiótica e produção de plântulas de *C. warneri*

O extrato aquoso de *D. subspicatus* foi utilizado como aditivo ao meio de cultivo para propagação de *Cattleya warneri* (Orchidaceae) em duas etapas experimentais sequenciais: germinação assimbiótica *in vitro*; e posteriormente no crescimento de plântulas com sistema foliar e radicular desenvolvidos. As seções a seguir detalham as metodologias empregadas nos bioensaios com orquídeas.

2.2.1. Obtenção das sementes e teste de viabilidade

Plantas de *C. warneri* originárias da Coleção Científica “Frederico Carlos Hoehne”, Instituto de Botânica, São Paulo - Brasil, foram previamente selecionadas para polinização cruzada para obtenção das sementes usadas para germinação assimbiótica. O teste de viabilidade foi realizado de acordo com metodologia descrita por Suzuki *et al.* (2012) e consiste em pesar 10 mg de sementes em microtubos; adicionar 2 mL de solução aquosa de sacarose (10% m v⁻¹) e manter em temperatura ambiente e no escuro por 24 h; após esse

período a solução de sacarose foi substituída por uma solução aquosa de tetrazólio (1% m v⁻¹) e incubada no escuro a 38 °C por 24 h. Para finalizar, a solução de tetrazólio foi descartada e substituída por água destilada e as sementes foram analisadas sob estereomicroscópio óptico para determinar a viabilidade das sementes.

2.2.2. Desinfestação das sementes e meio de cultura

As sementes foram submetidas a um protocolo de desinfestação com hipoclorito de sódio 1% (v v⁻¹) por 10 minutos; decorrido esse tempo a solução foi descartada e foram realizadas cinco lavagens sequenciais com água destilada esterilizada em papel filtro autoclavado, a fim de garantir a ausência de contaminantes na cultura. Em todos os tratamentos foi utilizado meio de cultura MS/2, que consiste no meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com a concentração dos sais que compõem os macronutrientes reduzida pela metade.

2.2.3. Germinação assimbiótica

Após a determinação da viabilidade e desinfestação, as sementes de *C. warneri* foram semeadas em placas de Petri contendo meio MS/2 com diferentes condições de cultivo: Controle (sem adição extrato) e cinco concentrações de extrato de *D. subspicatus* (0,5; 1; 2; 4; e 8 g L⁻¹). Foram distribuídas aproximadamente 800 sementes por placa, com oito repetições por tratamento. Em cada placa foram delimitadas três regiões contendo aproximadamente 100 sementes para acompanhamento da germinação e desenvolvimento dos protocormos. A germinação foi avaliada após 90 dias da semeadura, quando foram determinados os estádios de desenvolvimento dos protocormos; a massa seca; e os teores de fitormônios.

2.2.4. Produção de plântulas

Após os 90 dias da germinação, parte dos protocormos referentes a cada tratamento foi transplantada para frascos contendo meio de cultura e as mesmas concentrações de extrato, a fim de promover o crescimento das plântulas até formação de sistema foliar e radicular. Cada tratamento consistiu em 8 placas de Petri com 20 protocormos cada. Após 120 dias do transplante, as plântulas foram avaliadas quanto ao número e comprimento das folhas; número e

comprimento das raízes; massa seca; e teores de fitormônios. Todos os bioensaios de propagação de orquídeas foram realizados no Laboratório de Micropropagação Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

2.3. Determinação dos fitormônios nos protocormos e plântulas de *C. warneri* produzidos in vitro

Os protocormos produzidos durante a etapa de germinação assimbiótica e as plântulas obtidas após o transplântio foram avaliados quanto ao teor de fitormônios, com o objetivo de correlacionar as respostas de morfogênese com as respostas fisiológicas. A extração dos fitormônios foi realizada seguindo metodologia adaptada de Großkinsky *et al.* (2014) que consiste na maceração do material vegetal em nitrogênio líquido, extração utilizando etanol 80% e separação dos compostos por cartuchos de extração em fase sólida (SPE) para remoção de contaminantes da amostra. Os extratos vegetais foram avaliados seguindo metodologia descrita por Mazepa *et al.* (2021), e consiste na análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrômetro de massas (HPLC-MS). A correlação dos resultados dos extratos vegetais foi realizada comparando os tempos de retenção dos compostos com os padrões de fitormônios *trans*-zeatina, dihidrozeatina, zeatina ribosídeo, cinetina, cinetina ribosídeo (KR), benziladenina, benziladenosina, ácido giberélico, ácido indol acético e ácido abscísico.

2.4. Análise estatística

Todos os parâmetros foram avaliados estatisticamente aplicando análise de variância (ANOVA) seguida de Teste de Tukey para determinação das diferenças entre as médias de todos os tratamentos. Dados com *p* valor menor que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Todos os gráficos foram gerados a partir do software GraphPad Prism 8 (version 8.0.2 GraphPad software inc., 2010, San Diego, USA).

3. Resultados e Discussão

Os resultados do teste do tetrazólio para determinação da viabilidade das sementes de *C. warneri* permitiu identificar três categorias de resposta:

Sementes viáveis ($86 \pm 3\%$), caracterizadas pela intensa coloração avermelhada do embrião no interior da semente; Sementes inviáveis ($3 \pm 0,5\%$), caracterizadas pela ausência de pigmentação avermelhada no embrião, embora este seja visível; e Palha ($11 \pm 1\%$), caracterizadas pela ocorrência apenas do tegumento externo da semente e pela ausência do embrião (Figura 1).



Figura 4. Teste de viabilidade das sementes de *C. warneri*.

A determinação da viabilidade das sementes utilizadas nos protocolos de propagação de orquídeas é de fundamental importância, uma vez que as sementes são desprovidas de endosperma e os processos de germinação são mais exigentes quando comparados com outras espécies vegetais. O elevado percentual de viabilidade observado para as sementes de *C. warneri* indica que as metodologias de coleta e armazenamento das sementes foi adequado, o que permite avaliar de forma mais objetiva as respostas morfológicas e fisiológicas das plantas frente ao uso do extrato como aditivo no meio de cultura na germinação assimbiótica.

A germinação de sementes de orquídeas apresenta estádios de desenvolvimento específicos e bem definidos: Absorção de água e intumescimento das sementes; desenvolvimento de embrião clorofilado; rompimento da testa e exposição de um embrião globular; desenvolvimento do ápice foliar; e formação de folhas. De acordo com Jorge, Abrão e Suzuki (2015) as sementes são consideradas germinadas ao apresentarem embrião intumescido, clorofilado e com a testa rompida. Decorridos 90 dias da semeadura todos os tratamentos foram considerados germinados, diferindo

morfologicamente entre si pelo estágio de desenvolvimento. A Figura 2 ilustra as características morfológicas dos protocormos de *C. warneri* após 90 dias de semeadura.

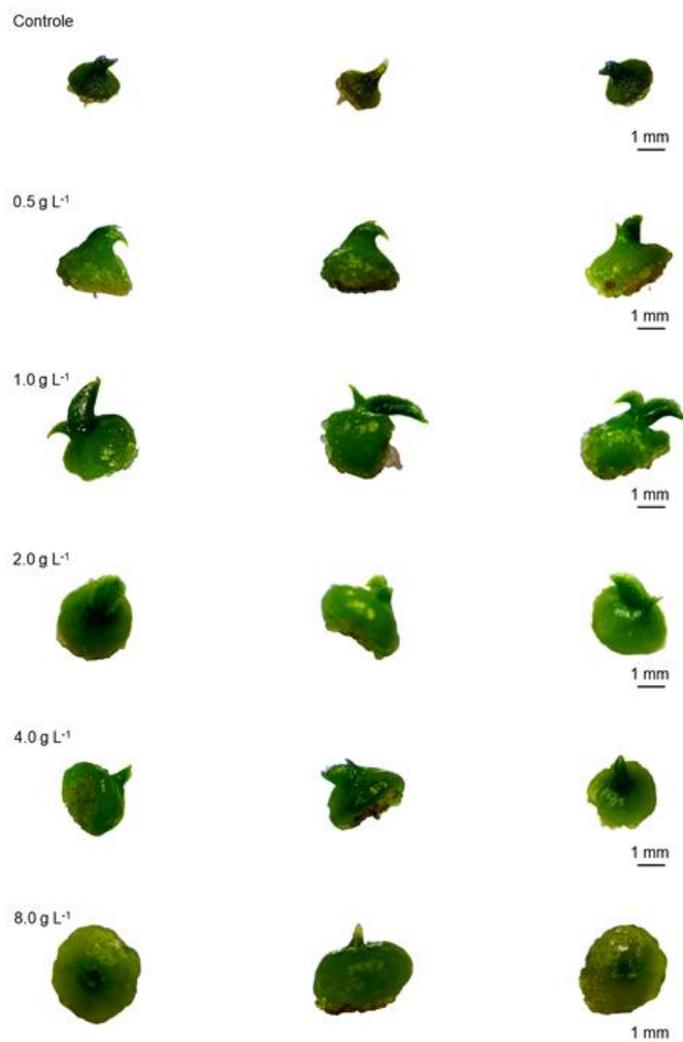


Figura 5. Protocormos produzidos por germinação assimbiótica após 90 dias.

Ao final do período de germinação, o tratamento controle (sem adição de extrato) apresentou protocormos clorofilados com presença de ápice foliar em início de desenvolvimento, no entanto, quando comparado com os demais tratamentos, destaca-se a diferença de volume dos protocormos. Os tratamentos com 0,5 e 4,0 g L⁻¹ de extrato aquoso de *D. subspicatus* apresentaram protocormos com início de desenvolvimento de folhas. Qualitativamente, os tratamentos com 1,0 e 2,0 g L⁻¹ de extrato apresentaram maior desenvolvimento,

com protocormos com uma ou mais folhas desenvolvidas, diferindo dos demais tratamentos, ainda que o tratamento $1,0 \text{ g L}^{-1}$ tenha apresentado folhas mais bem desenvolvidas. O tratamento com maior concentração de extrato ($8,0 \text{ g L}^{-1}$) foi o que apresentou menor desenvolvimento, com a formação de ápice foliar apenas, embora tenha apresentado maior volume entre todos os tratamentos.

Em síntese, uma análise qualitativa dos estádios de desenvolvimento dos protocormos após 90 dias de semeadura indica que a adição do extrato de *D. subspicatus* possui efeito promotor de crescimento na germinação assimbiótica de sementes de *C. warneri*, com maior desenvolvimento para concentração de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ e inibição/retardamento do desenvolvimento para a maior concentração de extrato com $8,0 \text{ g L}^{-1}$. Os resultados referentes à germinação servem de indicativo da ação bioestimulante do extrato de *D. subspicatus* sobre os estádios de desenvolvimento das sementes de *C. warneri* germinadas *in vitro*.

Os estádios de desenvolvimento observados no presente estudo são mais avançados aos observados por Jorge, Abrão e Suzuki (2015), que descrevem a germinação de assimbiótica de *Cattleya warneri* em meio de cultura MS/2 e relatam que na avaliação de 90 dias foram registrados apenas protocormos intumescidos e clorofilados. Esse resultado indica que a utilização do extrato aquoso de *D. subspicatus* como aditivo no meio de cultura para germinação assimbiótica da orquídea *C. warneri* promove a obtenção de plântulas melhor desenvolvidas em intervalo de tempo menor do que os protocolos disponíveis na literatura científica.

Para complementar as análises de avaliação dos estádios de desenvolvimento das sementes germinadas, foi determinada a massa seca dos protocormos obtidos em cada tratamento ao final dos 90 dias de cultivo. A Figura 3 apresenta os resultados de massa seca para 100 protocormos de cada tratamento.

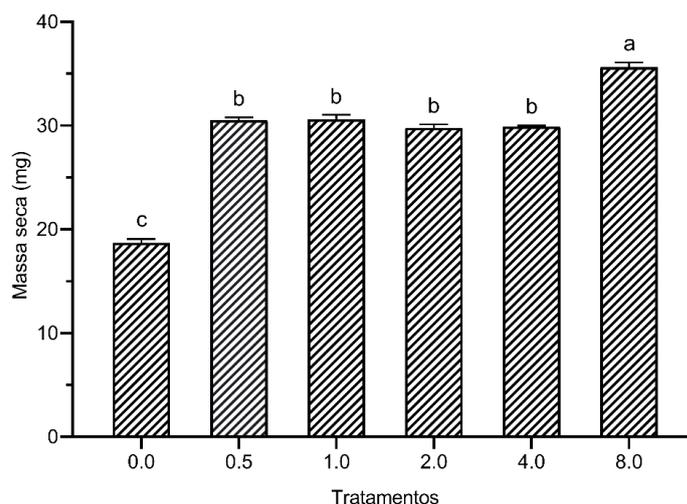


Figura 6. Massa seca dos protocormos após 90 dias de germinação.

Os resultados da determinação da massa seca dos protocormos resultantes dos 90 dias de germinação assimbiótica refletem os resultados dos estádios de desenvolvimento e corroboram a avaliação qualitativa do volume dos protocormos. O tratamento com 8,0 g L⁻¹ de extrato aquoso apresentou maior massa seca dentre os demais, enquanto os tratamentos 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0 g L⁻¹ não diferem significativamente entre si, e o tratamento controle sem adição de extrato aquoso apresentou o menor resultado de massa seca. Assim como na avaliação do desenvolvimento dos protocormos, a adição do extrato aquoso ao meio de cultura permitiu maior crescimento dos protocormos quando comparados ao controle. Vale destacar que apesar de o tratamento com maior concentração de extrato (8,0 g L⁻¹) não resultar em protocormos tão bem desenvolvidos como nas outras concentrações, permitiu o maior ganho de massa, resultando em aproximadamente o dobro da biomassa registrada no tratamento controle.

Os trabalhos que se dedicam a avaliação da germinação de orquídeas *in vitro* objetivam em sua maioria o desenvolvimento de protocolos para a propagação e obtenção de plântulas, por essa razão não foram encontrados resultados na literatura que permitissem uma comparação da biomassa dos protocormos sob efeito do extrato aquoso com outras condições de cultivo. Ainda assim, a correlação entre a avaliação dos estádios de desenvolvimento dos protocormos com a biomassa produzida permite inferir que a concentração de

1,0 g L⁻¹ permite o equilíbrio entre a divisão celular e os processos de morfogênese.

A fim de avaliar a resposta fisiológica dos protocormos desenvolvidos na germinação em resposta a adição do extrato, foram realizadas extrações com solução etanólica (80% v v⁻¹) dos protocormos após 90 dias da semeadura para determinação dos fitormônios por HPLC-MS. A análise permitiu identificar um composto com eluição em 9,8 min e através da comparação do tempo de retenção e dos espectros de massas dos fitormônios utilizados para confecção da curva de referência foi possível identificar a presença da citocinina cinetina ribosídeo. Com base na avaliação dos extratos de cada tratamento é possível indicar que o tratamento controle não apresentou a presença dessa citocinina, enquanto os tratamentos contendo extrato da microalga *D. subspicatus* favoreceram a biossíntese de cinetina ribosídeo pelos protocormos em desenvolvimento durante a germinação assimbiótica.

Pintos *et al.* (2002) avaliaram os níveis de citocininas endógenas em explantes de pecíolo de *Medicago arborea* e em calos embriogênicos e não embriogênicos induzidos a partir de explantes de pecíolo e observaram a aplicação de citocininas exógenas induzia o aumento da síntese das citocininas endógenas após o primeiro mês de cultivo. Os autores argumentam que os processos de morfogênese, organogênese e embriogênese *in vitro* dependem do equilíbrio entre os reguladores aplicados externamente e os fitormônios presentes no explante. Esses resultados auxiliam a explicar a ausência de cinetina ribosídeo no tratamento controle, sem aplicação da zeatina presente no extrato aquoso.

A quantificação de cinetina ribosídeo por HPLC-MS juntamente com os rendimentos da extração etanólica dos protocormos serviram para determinar a razão mássica dessa citocinina na biomassa vegetal. A Figura 4 apresenta os resultados da quantificação de cinetina ribosídeo nos protocormos produzidos por germinação assimbiótica de sementes de *C. warneri*.

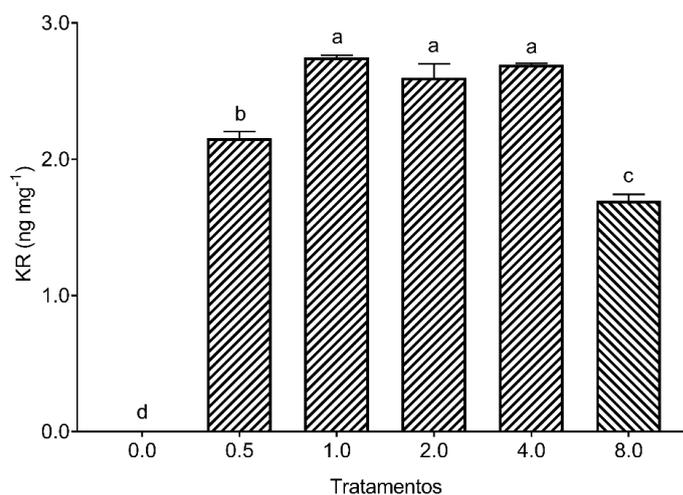


Figura 4. Quantificação de cinetina ribosídeo nos protocormos.

É possível destacar que os maiores teores de cinetina ribosídeo presentes na biomassa dos protocormos foram observados nas concentrações de 1,0; 2,0; e 4,0 g L⁻¹ de extrato de microalgas, com aproximadamente 2,8 ng de KR por mg de biomassa vegetal, não diferindo significativamente entre si. Em seguida aparece o tratamento com 0,5 g L⁻¹ de extrato, com 2,0 ng mg⁻¹; e a concentração de 8,0 g L⁻¹ com 1,8 ng mg⁻¹. O tratamento controle foi o único a não apresentar conteúdo de cinetina ribosídeo no extrato etanólico obtido da biomassa dos protocormos.

As citocininas ocorrem de forma livre ou glicosiladas nos tecidos vegetais, como é o caso da cinetina ribosídeo, que está associada ao aumento da divisão celular, alongamento dos tecidos e formação de parte aérea (SAKAKIBARA, 2006). Os elevados teores de KR nos protocormos dos tratamentos com 1,0; 2,0; e 4,0 g L⁻¹ quando comparados aos demais tratamentos podem explicar os resultados da avaliação dos estádios de desenvolvimento dos protocormos. Enquanto esses tratamentos apresentaram protocormos com folhas desenvolvidas, os demais tratamentos apresentaram apenas o surgimento dos ápices foliares. Como a KR é uma citocinina e tem papel nos processos de organogênese associados à parte aérea, é condizente a presença de maiores concentrações desse regulador nos protocormos mais desenvolvidos.

Sequencialmente à etapa de germinação assimbiótica e obtenção de protocormos com ápices foliares ou folhas desenvolvidas, os protocormos foram transplantados para novas placas de Petri contendo meio MS/2 nas mesmas condições de cultivo. Para essa etapa o tratamento com $8,0 \text{ g L}^{-1}$ foi excluído, uma vez que essa concentração retardou/inibiu o desenvolvimento dos protocormos. A etapa de transplântio teve por objetivo a produção de plântulas com sistema foliar e radicular plenamente desenvolvidos e teve duração de 120 dias de cultivo. Ao final desse período, as plântulas foram avaliadas quanto ao número e comprimento de folhas produzidas, número e comprimento de raízes, massa seca das plântulas e teor de fitormônios (Figura 5).

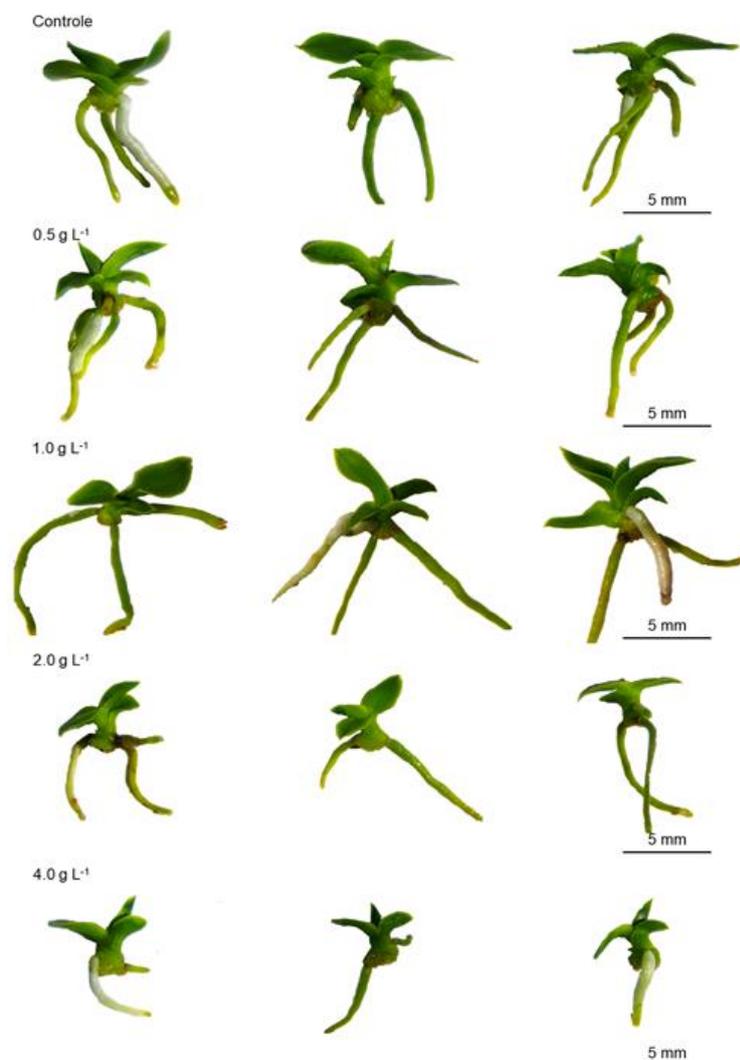


Figura 5. Plântulas de orquídeas produzidas após transplântio.

Todos os tratamentos produziram plântulas com folhas e raízes desenvolvidas, diferindo entre si pelo tamanho das plântulas, e pela complexidade dos sistemas foliar e radicular. Apesar de o tratamento controle ter produzido protocormos pouco desenvolvidos na etapa de germinação anterior ao transplante, nessa etapa foram obtidas plântulas completas. Assim como o tratamento controle, os demais tratamentos com diferentes concentrações de extrato aquoso resultaram em plântulas com sistema foliar e radicular bem desenvolvido.

Quando avaliados os resultados referentes à formação do sistema foliar, é possível destacar que o tratamento com adição de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de extrato de microalgas resultou em plântulas com maior número de folhas e maior comprimento total de folhas dentre todos os tratamentos (Figura 6-A).

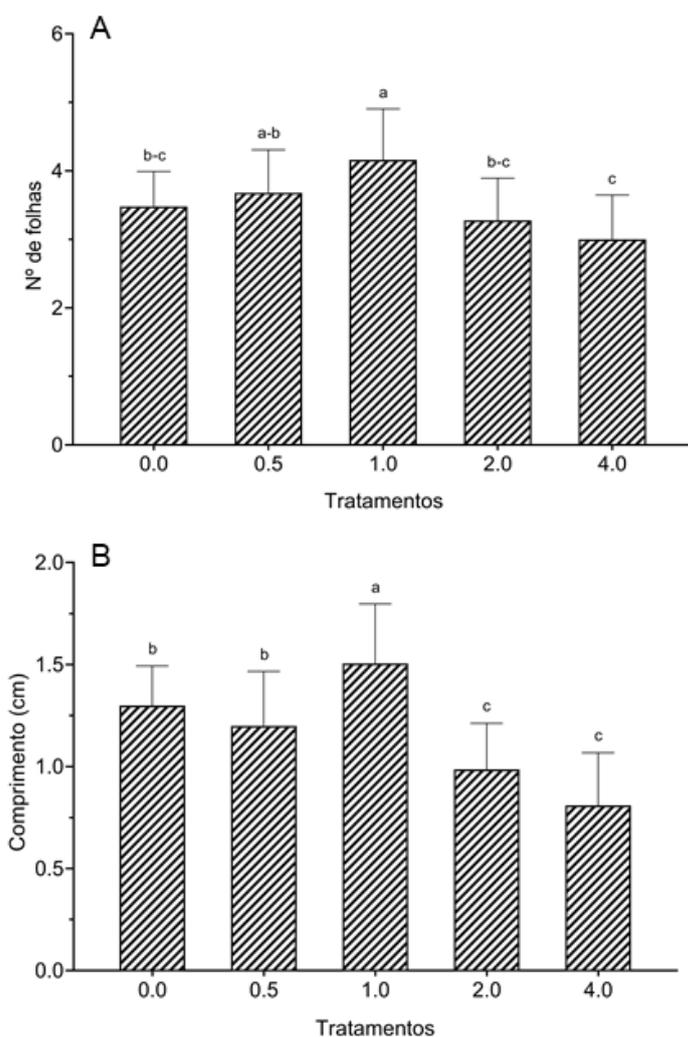


Figura 6. Número (A) e comprimento (B) das folhas das plântulas de orquídeas.

Com base nos resultados destacados na Figura 6-A nota-se o maior número de folhas por plântula registrado no tratamento com $1,0 \text{ g L}^{-1}$ ($4,16 \pm 0,7$), com diferença significativa em relação ao tratamento controle ($3,48 \pm 0,5$) e às demais concentrações de extrato, exceto para $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ($3,68 \pm 0,6$). De maneira semelhante, quando comparados os resultados referentes ao comprimento total das folhas de cada plântula obtida nos diferentes tratamentos, é possível destacar a mesma tendência, com os melhores resultados referentes ao tratamento com $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de extrato diferindo significativamente de todas as outras condições. Em seguida aparecem o tratamento controle; $0,5$; $2,0$ e $4,0 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente (Figura 6-B). Assim como observado na etapa de germinação assimbiótica, os tratamentos contendo maiores concentrações de extrato aquoso de *D. subspicatus* apresentaram algum grau de inibição no desenvolvimento do sistema foliar dos explantes. A avaliação do número de raízes formadas em cada plântula indica não haver diferença entre o tratamento controle e as menores concentrações de extrato ($0,5$ e $1,0 \text{ g L}^{-1}$), sendo estes os melhores resultados, seguidos das concentrações $2,0$ e $4,0 \text{ g L}^{-1}$ (Figura 7-A).

A avaliação da massa seca das plântulas obtidas ao final dos 120 dias de cultivo mostrou que os tratamentos controle e $1,0 \text{ g L}^{-1}$ não diferem significativamente um do outro, sendo estes os melhores resultados observados. Na sequência aparecem os tratamentos com $0,5$; $2,0$ e $4,0 \text{ g L}^{-1}$ de extrato de *D. subspicatus* no meio de cultura (Figura 8). Os dados de número e comprimento de folhas e raízes, juntamente os resultados da massa seca das plântulas permitem definir que o melhor tratamento foi $1,0 \text{ g L}^{-1}$, uma vez que permitiu o desenvolvimento de plântulas superiores aos demais tratamentos, sobretudo no que se refere à formação e desenvolvimento do sistema radicular.

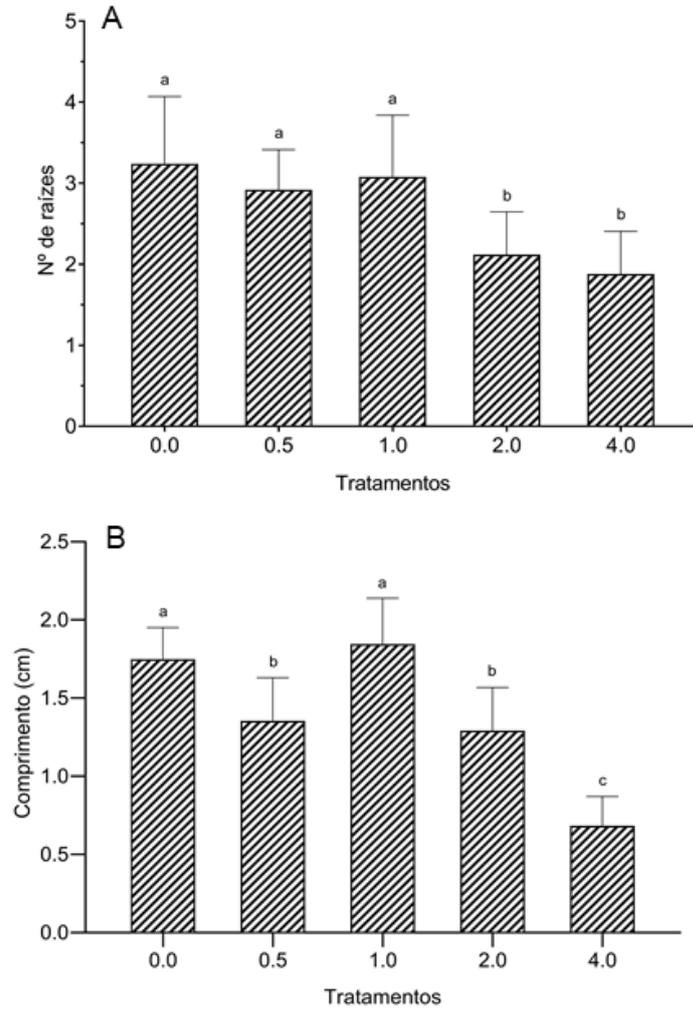


Figura 7. Número (A) e comprimento (B) das raízes das plântulas de orquídeas.

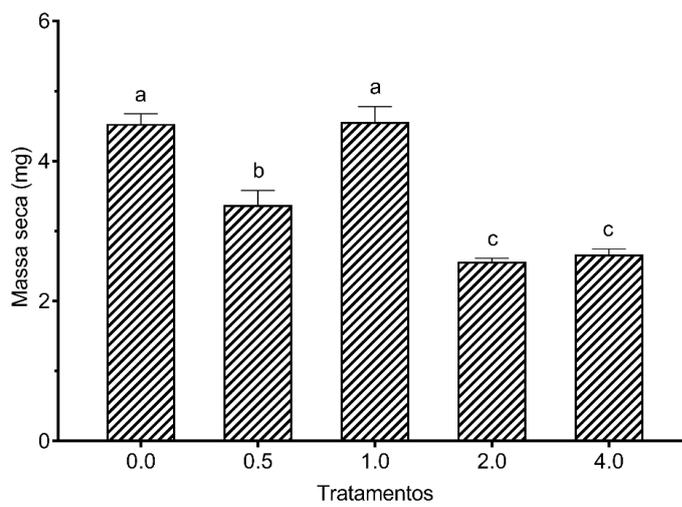


Figura 8. Massa seca das plântulas.

As plântulas foram ainda avaliadas quanto aos teores de fitormônios presentes em sua biomassa. De maneira similar ao observado na quantificação de fitormônios dos protocormos, foi possível identificar apenas um tipo de regulador vegetal, nesse caso o ácido abscísico. Para sua identificação foram comparados os perfis de eluição dos extratos de cada tratamento com a curva de referência, permitindo identificar a presença de ABA em 13,1 min de eluição em HPLC-MS.

Diferente dos dados apresentados para a quantificação de fitormônios nos protocormos, que mostraram a presença de KR nos tratamentos com adição de extrato de microalgas, mas não no tratamento controle, os resultados das plântulas mostraram a presença de ABA em todos os tratamentos. A quantificação desse composto mostrou que as plântulas do tratamento com 1,0 g L⁻¹ de extrato possuem menores teores de ABA em sua biomassa, diferindo significativamente dos demais tratamentos. O controle e as concentrações 2,0 e 4,0 g L⁻¹ não diferem entre si, enquanto a maior concentração de ABA na biomassa das plântulas foi observada para o tratamento com 0,5 g L⁻¹ de extrato de microalgas (Figura 9).

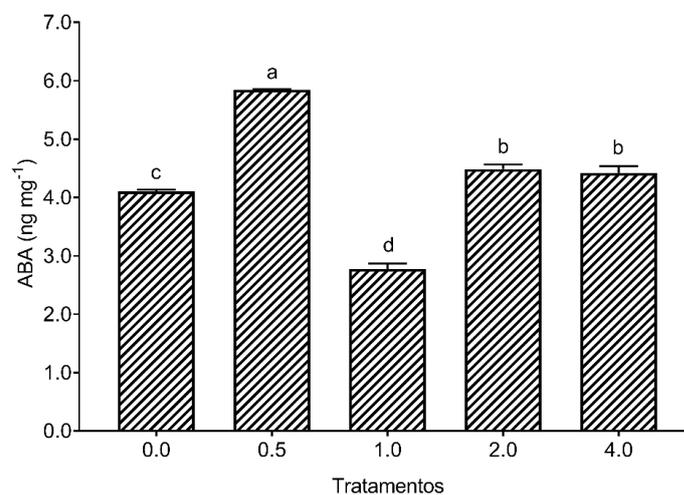


Figura 9. Quantificação de ácido abscísico nas plântulas.

Esses resultados corroboram os demais dados de caracterização morfológica das plântulas obtidas após o cultivo de 120 dias, uma vez que o tratamento que apresentou melhores respostas de desenvolvimento de sistema

foliar e radicular, bem como acúmulo de biomassa coincide com a menor concentração de ABA em seus tecidos, considerando que este regulador vegetal é reconhecido por suas funções relacionadas à inibição do desenvolvimento vegetal.

A correlação dos resultados obtidos nos ensaios com as orquídeas na etapa de germinação e na etapa de produção de plântulas, juntamente com os resultados de composição do extrato aquoso, permite discutir a ação dos componentes do extrato sobre o desenvolvimento das orquídeas *in vitro*. Ainda que os resultados obtidos possam ser atribuídos à presença de fitormônios no extrato aquoso, é importante considerar uma possível ação sinérgica entre os diferentes componentes do extrato, carboidratos, proteínas, glicosídeos e fitormônios. De qualquer maneira, os resultados da utilização do extrato da microalga na propagação da orquídea mostraram grande potencial de aplicação.

4. Conclusão

A propagação *in vitro* de plantas de orquídeas é uma ferramenta fundamental nas estratégias de recuperação de espécies ameaçadas de extinção e na produção de plantas para o mercado de flores sem ocasionar a sobre-exploração das espécies em seus ambientes de ocorrência natural. Com base na importância desse processo, a utilização do extrato aquoso da microalga *D. subspicatus* como aditivo ao meio de cultura de propagação apresenta elevado potencial biotecnológico, uma vez que os resultados obtidos nas etapas de germinação assimbiótica e produção de mudas foram muito promissoras.

As respostas fisiológicas observadas indicam que a ação exógena dos compostos do extrato possui influência nos níveis endógenos de citocininas como a cinetina ribosídeo, o que acabou por favorecer as respostas de morfogênese nos protocormos. Da mesma forma, os níveis de ácido abscísico registrados nas plantas ao final de 120 dias de cultivo correlacionam-se com o desenvolvimento dos sistemas foliar e radicular observados.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro do Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) e Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de

Nível Superior (CAPES) através do financiamento de projetos e fornecimento de bolsas de pós-graduação.

6. Referências

BAJGUZ, A. Isolation and characterization of brassinosteroids from algal cultures of *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Trebouxiophyceae). **Journal of Plant Physiology**, v. 166, p. 1946-1949, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.05.003>.

BATTACHARYYA, D. *et al.* Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 39-48, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.012>.

BURCZYK, J. *et al.* Polyamines in Cell Walls of Chlorococcalean Microalgae. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 69, p. 75–80, 2014. <https://doi.org/10.5560/znc.2012-0215>.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, v. 383, p. 3-41, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>.

CANELLAS, L. P. *et al.* Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 15-27, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.013>.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2001. 131 p.

CAZZANIGA, S. *et al.* Domestication of the green alga *Chlorella sorokiniana*: reduction of antenna size improves light-use efficiency in a photobioreactor. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, p. 1-13, 2014. <https://doi.org/10.1186/s13068-014-0157-z>.

CHEW, K. W. *et al.* Microalgae biorefinery: high value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53-62, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.006>.

COLLA, G. *et al.* Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 28-38, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.037>.

CORBELLINI, J. R. *et al.* Effect of microalgae *Messastrum gracile* and *Chlorella vulgaris* on the in vitro propagation of orchid *Cattleya labiate*. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, p. 4013-4027, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02251-9>.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>.

GROßKINSKY, D. K. *et al.* A Rapid Phytohormone and Phytoalexin Screening Method for Physiological Phenotyping. **Molecular Plant**, v. 7, p. 1053-1056, 2014. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu015>.

GUPTA, A. Asymbiotic seed germination in orchids: role of organic additives **International Advanced Research Journal in Science, Engineering and Technology**, v. 3, p. 143-147, 2016.

JIE, M. *et al.* Preparation and optimization of amino acid chelated micronutrient fertilizer by hydrolyzation of chicken waste feathers and the effects on growth of rice. **Journal of Plant Nutrition**, v. 31, p. 571-582, 2008. <https://doi.org/10.1080/01904160801895092>.

JORGE, J.; ABRÃO, M. C. R.; SUZUKI, R. M. Germinação e crescimento inicial *in vitro* de *Cattleya warneri* T. Moore (Orchidaceae). **Revista brasileira de biociências**, v. 13, p. 134-141, 2015.

LU, Y. *et al.* Antagonistic roles of abscisic acid and cytokinin during response to nitrogen depletion in oleaginous microalga *Nannochloropsis oceanica* expand the evolutionary breadth of phytohormone function. **The Plant Journal**, v. 80, p. 52-68, <https://doi.org/2014.10.1111/tpj.12615>.

LU, Y.; XU, J. Phytohormones in microalgae: a new opportunity for microalgal biotechnology? **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 5, p. 273-282, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.01.006>.

MAZEPA, E. *et al.* Plant growth biostimulant activity of the green microalga *Desmodesmus subspicatus*. **Algal Research**, v. 59, p. 1-10, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102434>.

MERCADO, S. A. S.; CONTRERAS, N. A. V. Asymbiotic seed germination and in vitro propagation of *Cattleya trianae* Linden & Reichb. f. (Orchidaceae). **Acta Agronómica**, v. 66, p. 544–548, 2017. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v66n4.63597>.

MORAES, J. G. V. Biofertilizantes: identificação das barreiras regulatórias e propostas para viabilizar esse insumo agrícola. Dissertação de Mestrado. São Paulo: Fundação Getúlio Vargas, Escola de Economia de São Paulo, 2015.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

PEREIRA, N. S. *et al.* Application of *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyceae) as supplement and/or an alternative medium for the in vitro cultivation of *Schomburgkia crispa* (Orchidaceae). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 2347–2358, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1441-2>.

PINTOS, B. *et al.* Endogenous cytokinin levels in embryogenic and non-embryogenic calli of *Medicago arborea* L. **Plant Science**, v. 163, p. 955-960, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00244-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00244-3).

POVH, J. A. Reguladores Vegetais e Bioestimulantes no desenvolvimento de *Salvia officinalis* L: avaliações fisiológicas, bioquímicas e fitoquímicas. Tese de Doutorado. Botucatu: Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2008.

PRIYADARSHANI, I.; RATH, B. Commercial and industrial applications of micro algae – A review. **Journal of Algal Biomass Utilization**, v. 3, n. 4, p. 89-100, 2012.

RAMOS-SUÁREZ, J. L. *et al.* Benefits of combining anaerobic digestion and amino acid extraction from microalgae. **Chemical Engineering Journal**, v. 258, p. 1-9, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.07.086>.

SAKAKIBARA, H. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. **Annual Reviews in Plant Biology**, v. 57, p. 431-449, 2006. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105231>.

SANTNER, A.; CALDERON-VILLALOBOS, L. I. A.; ESTELLE, M. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. **Nature Chemical Biology**, v. 5, n. 5, p. 301-307, 2009. <https://doi.org/10.1038/nchembio.165>.

SCAGLIA, B.; POGNANI, M.; ADANI, F. The anaerobic digestion process capability to produce biostimulant: the case study of the dissolved organic matter (DOM) vs. auxin-like property. *Science of The Total Environment*, v. 589, p. 36-45, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.223>.

SCHNEIDER, L.; ARAÚJO, J. S. P.; ZAFFARI, G. R. Seed Germination of *Cattleya intermedia* and *Cattleya warneri* in Alternative culture Media. **American International Journal of Contemporary Research**, v. 4, n. 7; p. 60-66, 2014.

SPINELLI, F. *et al.* Perspectives on the use of a seaweed extract to moderate the negative effects of alternate bearing in apple trees. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 84, n. 6, p. 131-137, 2009. <http://dx.doi.org/10.1080/14620316.2009.11512610>.

STIRK, W. A.; VAN STADEN, J. Flow of cytokinins through the environment. **Plant Growth Regulation**, v. 62, p. 101-116, 2010. <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-010-9481-x>

SUZUKI, R. M.; MOREIRA, V. C.; PESCADOR, R.; FERREIRA, W. M. Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of the threatened orchid *Hoffmannseggella cinnabarina*. **In Vitro Cell, Dev, Biol, Plant**, 48, 500-511, 2012. <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-012-9460-1>.

TARAKHOVSKAYA, E. R.; MASLOV, Y. I.; SHISHOVA, M. F. Phytohormones in algae. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 54, n. 2, p. 163-170, 2007. <https://doi.org/10.1134/S1021443707020021>.

UTAMI, E. S. W.; HARIYANTO, S. Organic compounds: contents and their role in improving seed germination and protocorm development in orchids. **International Journal of Agronomy**, v. 2, p. 1-12, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2795108>.

YEUNG, E. C. A perspective on orchid seed and protocorm development. **Botanical Studies**, v. 58, p.1-14, 2017. <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0188-4>.

Autores

Diego de Oliveira Corrêa¹, Beatriz Santos¹, Luciana Lopes Fortes Ribas², Érika Amano², Rogério Mamoru Suzuki³, Miguel Daniel Nosedá⁴

1. Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável, Universidade Federal do Paraná, Av. Cel. Heráclito dos Santos, CEP 81531-980, Curitiba, Brasil.
2. Departamento de Botânica, Universidade Federal do Paraná, Av. Cel. Heráclito dos Santos, CEP 81531-980, Curitiba, Brasil.
3. Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, Av. Miguel Stéfano, 3687, CEP 04301-902, São Paulo, Brasil.
4. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Av. Cel. Heráclito dos Santos, CEP 81531-980, Curitiba, Brasil.

*Autor para correspondência: diego.biodoc@gmail.com

Aplicação de sistemas baseados em microalgas para controle de odores em estações de tratamento de águas residuais: abordagens, avanços e perspectivas

Karem Rodrigues Vieira, Pricila Nass Pinheiro, Tatiele Casagrande do Nascimento

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c4>

Resumo

A emissão de compostos de odores das estações de tratamento de águas residuais tem atraído muita atenção ao longo dos anos e padrões ambientais rigorosos tem sido amplamente adotado para reduzir as emissões. Métodos de tratamento biológico de odores têm aplicações mais amplas do que as contrapartes físicas e químicas, pois são ecológicos, econômicos e geram poucos resíduos secundários. Os sistemas baseados em microalgas estão entre as abordagens mais promissoras para a prevenção ou remoção final de emissões de odores. Além disso, têm o potencial de tratar simultaneamente odores e águas residuais. No entanto, biotecnologias para este fim envolvendo microalgas ainda precisam ser discutidas sobre as características e mecanismos subjacentes do processo de desodorização. Recentemente, estudos consideráveis foram relatados para elucidar o metabolismo microalgal no controle de odores e tratamento de águas residuais. Assim, neste capítulo tópicos como metabolismo microalgal, biossíntese de compostos orgânicos voláteis, características e avanços de sistemas baseados em microalgas para tratamento de odores e aplicação de compostos voláteis de microalgas, são discutidos.

Palavras-chave: água residuária, biorreatores, cianobactéria, compostos orgânicos voláteis, poluição gasosa.

1. Introdução

A indústria alimentícia gera grande quantidade de água residuária durante os seus processos de produção e conseqüentemente gera um impacto ambiental significativo devido à descarga do efluente com alta concentração de carga orgânica nos corpos d'água, além disso são responsáveis por incômodos olfativos, gerados por diferentes processos químicos ou biológicos durante o tratamento. Os odores são formados principalmente por compostos orgânicos voláteis (COVs) como aldeídos, cetonas, ácidos orgânicos, além de nitrogenados e sulfurados (SADDOUD & SAYADI, 2007; LEBRERO *et al.*, 2013; LEWKOWSKA *et al.*, 2016).

Compostos orgânicos voláteis são definidos como qualquer composto orgânico cujo ponto de ebulição está na faixa de (50-260 °C), correspondendo a pressões de vapor de saturação maiores que 102 kPa a 25 °C. Uma variedade de COVs são tóxicos, sendo a maioria proveniente de atividades antropogênicas oriundos de emissões veiculares, indústrias petroquímicas e indústrias de manufaturas (EPA 2008; BERENJIAN, CHAN & MALMIRI, 2012). A exposição humana a COVs de origem antropogênica pode resultar em um espectro de doenças que variam de leves, como irritação, a efeitos muito graves, incluindo câncer (POVEDA, 2021).

Além disso, COVs podem apresentar odores que vai do agradável ao mais intenso e fétido. O odor é certamente o mais complexo de todos os problemas de poluição do ar. A poluição por odor contribui para a formação fotoquímica de fumaça, assim como emissões secundárias de contaminantes. Portanto, é uma ameaça à qualidade do ar, à saúde e bem-estar humano (CAPELLI *et al.*, 2009; BAJPAI, 2014; LEWKOWSKA *et al.*, 2016).

Dentre os métodos utilizados para a mitigação de odor nas estações de tratamento de água residuária estão os processos de absorção, incineração, oxidação, adsorção e tratamento biológico (DOMENO *et al.*, 2010). Métodos biológicos para a remoção de odores e COVs são tecnologias econômicas quando se trata de baixas concentrações, no entanto, suas desvantagens em relação aos poluentes hidrofóbicos têm sido relatadas, além do crescimento excessivo de biofilme e desempenho instável devido às mudanças da comunidade microbiana (BURGESS, PARSONS, STUETZ, 2001; MUNÓZ *et al.*, 2015; CHENG *et al.*, 2021).

A biotecnologia de microalgas é uma área emergente da tecnologia industrial, que vem se consolidando em função da sua potencialidade de exploração. As microalgas são consideradas uma fonte potencialmente nova e valiosa de compostos biologicamente ativos (NASCIMENTO *et al.*, 2019; PINHEIRO *et al.*, 2019; JACOB-LOPES *et al.*, 2020; SEVERO *et al.*, 2020). Além disso, o uso de microalgas desempenha um papel vital na conversão de resíduos em uma infinidade de produtos, por exemplo, biocombustíveis, nutracêuticos, polímeros, pigmentos, uma variedade de produtos químicos e COVs. Microalgas também apresentam potencial em transformar gases de efeito estufa industriais, bem como águas residuais em produtos úteis, servindo assim como uma plataforma eficaz de captura e utilização de carbono (WANG *et al.*, 2017; JACOB-LOPES *et al.*, 2020).

Por fim, uma inovação tecnológica atual é o uso de microalgas na mitigação de odores liberados de água residuária (VIEIRA *et al.*, 2019; 2021). Assim, este capítulo aborda os tópicos referentes ao metabolismo microalgal, produção de COVs por microalgas, mecanismos de desodorização de água residuária, além do potencial de aplicação de COVs de microalgas.

2. Microalgas e seu metabolismo

Microalgas são um grupo de microrganismos fotossintéticos tipicamente unicelulares, eucarióticos ou procarióticos. Desenvolvem-se principalmente em ambientes aquáticos, solos, rochas, e em ambientes extremos, como geleiras e fossas termais, podendo estar associados simbioticamente a outros organismos auxiliando-os na fixação de nitrogênio (HERRERO, MURO-PASTOR, FLORES, 2001; LOURENÇO, 2006; SANTOS *et al.*, 2017).

A diversidade metabólicas destes microrganismos podem explicar sua capacidade em responder rapidamente a alterações no meio onde vivem (ACHYUTHAN *et al.*, 2017). A diversidade deste grupo de microrganismos é destacada por serem responsáveis pela estruturação da atmosfera terrestre, por sua importância ecológica e econômica, sendo que as algas são as maiores removedoras de carbono da biosfera (MOORE, 2001).

Metabolicamente, as espécies de microalgas têm três vias de fixação de carbono: (i) fotoautotrófica, (ii) heterotrófica ou (iii) mixotrófica (PEREZ-GARCIA, & BASHAN, 2015; SANTOS *et al.*, 2016a). Destes, a via fotoautotrófica é a

principal rota energética dos microrganismos relacionados (SUGANYA *et al.*, 2016; SEVERO *et al.*, 2019). Este mecanismo envolve o uso de carbono inorgânico (CO_2) ou íons bicarbonato HCO_3^- dissolvido em meio aquoso (de acordo com pH: CO_2 (pH <5); HCO_3^- (7 <pH <9)) como fonte de carbono na presença de luz, principalmente regulado por carbono do metabolismo fotossintético e mecanismos de concentração (KONG, 2021).

Em geral, o metabolismo fotossintético do carbono microalgal ocorre através do ciclo Calvin-Benson-Bassham. Portanto, as microalgas usam energia luminosa para gerar equivalentes redutores e fixar CO_2 em moléculas orgânicas (por meio das reações dependentes e independentes de luz) (CALVIN & BENSON, 1948; SEVERO *et al.*, 2019; SU, 2021). O ciclo de Calvin é composto por 13 etapas catalisadas por cerca de 11 enzimas diferentes e subdivididas em 3 reações: (i) carboxilação, (ii) redução e (iii) regeneração (NOREÑA-CARO & BENTON, 2018; SEVERO *et al.*, 2020).

Como alternativa à condição de baixa concentração de CO_2 viabilizando a fotossíntese, a maioria das microalgas tem diferentes mecanismos de concentração de CO_2 : como assimilação de íons HCO_3^- por meio de transportadores ativos na membrana plasmática; e usando a enzima anidrase carbônica extracelular para conversão aumentada de HCO_3^- em CO_2 intracelular (NOREÑA-CARO & BENTON, 2018).

Por outro lado, algumas espécies de microalgas também podem crescer heterotroficamente na ausência de luz, suportadas por uma fonte de carbono exógena. No metabolismo heterotrófico, o substrato é convertido em glicose 6-fosfato para que possa iniciar a via oxidativa da pentose fosfato. Durante o metabolismo, ocorre a formação de duas moléculas de ATP (trifosfato de adenosina). O produto final, assim como no cultivo fotossintético, também é o piruvato (SANTOS *et al.*, 2016b; PINHEIRO *et al.*, 2019).

Além disso, algumas espécies de microalgas são mixotróficas e podem causar fototrofia e heterotrofia simultaneamente. Isso porque, o CO_2 é fixado pela fotossíntese, enquanto os substratos orgânicos são assimilados pela respiração aeróbia (PEREZ-GARCIA & BASHAN, 2015; PINHEIRO *et al.*, 2019).

3. Mecanismos de formação de compostos orgânicos voláteis em microalgas

Carbono exógenos são metabolizados a piruvato ou acetil-CoA. Além disso, as vias biossintéticas e metabólicas das microalgas podem converter esses substratos em COVs como terpenos, álcoois, cetonas, aldeídos, ésteres, hidrocarbonetos, ácidos carboxílicos e compostos sulfurados. Em geral, a produção desses compostos é alcançada por meio das vias de 2-cetoácidos, isoprenóides e derivados de ácidos graxos (ZARGAR *et al.*, 2017; JACOB-LOPES *et al.*, 2020; SEVERO *et al.*, 2020; VIEIRA, PINHEIRO & ZEPKA, 2020) como apresentada na Figura 1.

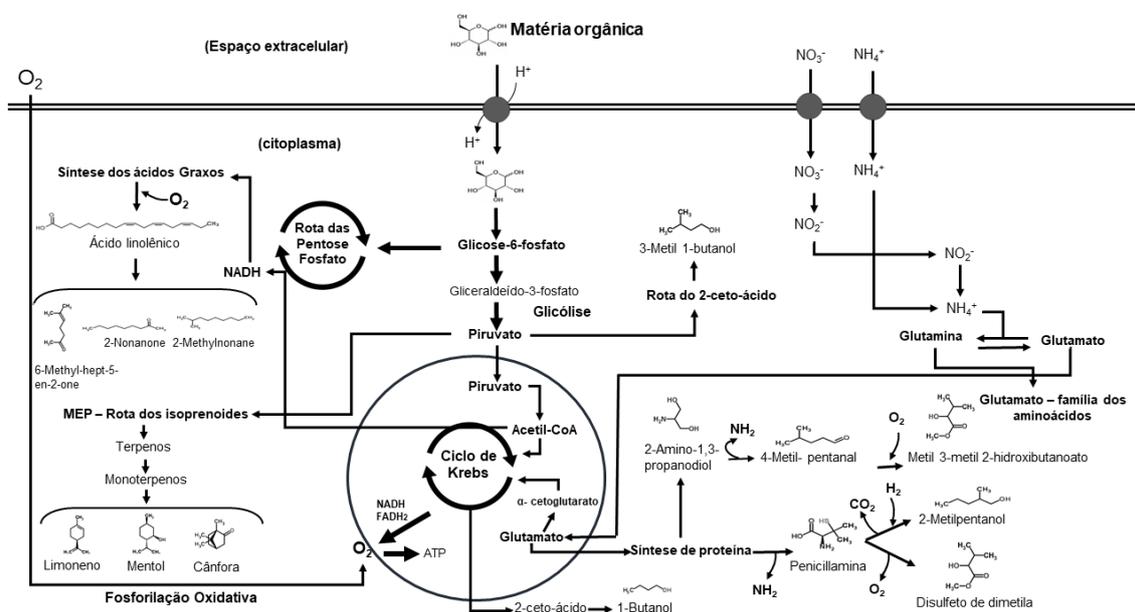


Figura 1. Rota metabólica de formação de compostos orgânicos voláteis por microalgas.

A via dos 2-cetoácidos é uma rota importante para a obtenção de compostos voláteis de diferentes classes químicas, como aldeídos, álcoois, ésteres e ácidos carboxílicos. Esta via envolve reações bioquímicas sequenciais, como extensão, descarboxilação, isomerização, redução, desidratação e esterificação de alguns aminoácidos de cadeia ramificada tais como, leucina e valina. Os compostos 1-butanol, 3-metil-butanol e 2-metil-butanol são reduzidos a 3-metil-butanol e 2-metil-butanol, além disso a reação pode ser estendida para

formar 1-hexanol e outros álcoois (LIAO, PONTRELLI & LUO, 2016; VIEIRA, PINHEIRO & ZEPKA, 2020).

A via dos ácidos graxos começa com acetil-CoA usando malonil-CoA como bloco de construção, com base em uma série de reações cíclicas catalisadas pelo sistema multienzimático, denominado ácido graxo sintase. Compostos orgânicos voláteis como cetonas, aldeídos, hidrocarbonetos e álcoois podem ser produzidos a partir da degradação de ácidos graxos (SANTOS *et al.*, 2016a; ZHOU, KERKHOVEN & NIELSEN, 2018). Cetonas estruturalmente diversificadas são produtos metabólicos de ácidos graxos precursores (PINHEIRO *et al.*, 2019; VIEIRA, PINHEIRO & ZEPKA, 2020). Exemplos recentes incluem a produção de 2-heptanona e 2-nonanona a partir da oxidação do ácido linoléico (HAN *et al.*, 2020).

Os aldeídos produzidos pela via dos ácidos graxos são aldeídos C6 e C9 que podem ser rapidamente metabolizados em álcoois por meio da enzima desidrogenase. Por exemplo, os ácidos graxos linoléico e ácido linolênico são conhecidos por serem precursores biossintéticos para 2,4-decadienal, 2-heptanol, 2-octenal e 1-hexanal, que podem ser subsequentemente reduzidos a álcoois como 1-hexanol (BRAVO-LAMAS *et al.*, 2018; JERKOVIĆ *et al.*, 2018; PINHEIRO *et al.*, 2019; VIEIRA, PINHEIRO & ZEPKA, 2020).

A conversão do ácido graxo em hidrocarboneto ocorre usando aldeídos como substratos. Pelo menos duas enzimas, redutase de proteína transportadora acil-acil e oxigenase deformiladora de aldeído, são responsáveis por catalisar a reação (PINHEIRO *et al.*, 2019; VIEIRA, PINHEIRO & ZEPKA, 2020; BASRI *et al.*, 2020).

Até o momento, três vias diferentes foram relatadas para sintetizar os isoprenóides: o ácido mevalônico (MVA); fosfato de metileritritol (MEP); e MVA modificado. No entanto, para espécies de microalgas, apenas as vias MVA / MEP foram descritas, ou ambas as vias em combinação (PINHEIRO *et al.*, 2019; VIEIRA, PINHEIRO & ZEPKA, 2020).

O isopentenil difosfato e o dimetilalil difosfato são os intermediários centrais do mecanismo dos isoprenóides. Em sequência, essas estruturas iniciais são transformadas em geranil difosfato seguido de farnesil difosfato (MEENA *et al.* 2017; PINHEIRO *et al.*, 2019). Posteriormente, esses precursores de carbono são convertidos em terpenóides diversificados, por meio de uma

série de reações catalisadas por três enzimas distintas: geranyl difosfato sintase, farnesil difosfato sintase e geranylgeranyl difosfato sintase, respectivamente. Finalmente, os carotenóides e seus produtos de clivagem oxidativa e enzimática são formados, como β -ionona e 6-metil-5-hepten-2-ona (DUDAREVA *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2016b).

Além disso, através do geranyl difosfato como substrato de partida, são produzidos a geosmina e o 2-metilisoborneol (2-MIB) (Figura 2), no qual foram amplamente estudados devido a indesejáveis manifestações de sabor e odor. A síntese de 2-metilisoborneol, inicia com a metilação do precursor geranyl difosfato em 2-metilgeranyl difosfato que é ciclizado em 2-MIB (LEE *et al.*, 2017). Em microalgas, a ciclização de farnesil difosfato pode formar geosmina, catalisada pela geosmina sintase por meio de três etapas (farnesil difosfato para germacradienol, germacradienol para 8,10-dimetil-1-octalina e 8,10-dimetil-1-octalina para geosmina) (DURME *et al.*, 2013; MEENA *et al.*, 2017; LIATO & AÏDER, 2017).

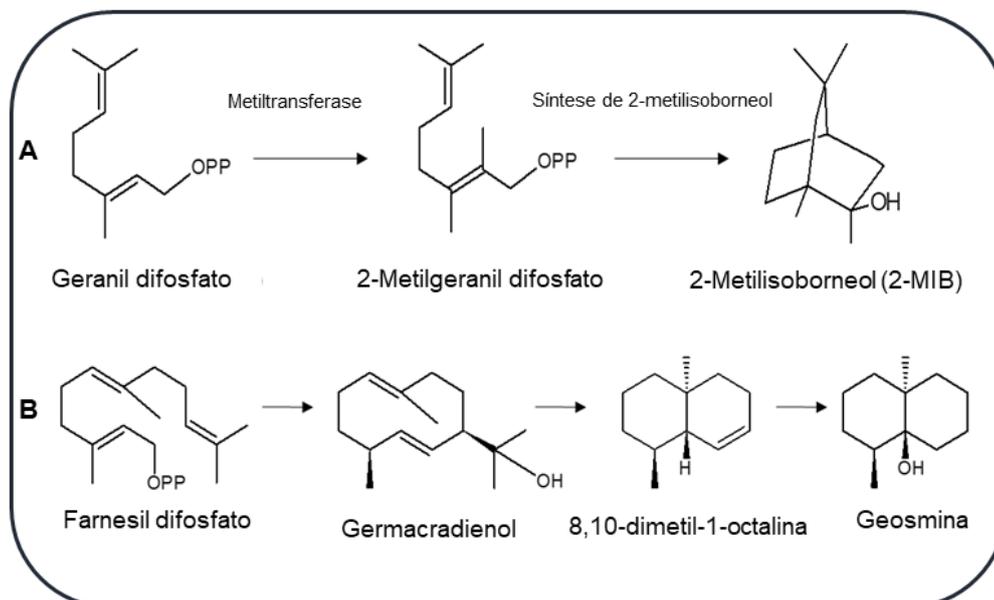


Figura 2. Mecanismo de formação de 2-MIB (A) e Geosmina (B).

As microalgas também liberam compostos de enxofre, como dimetilsulfeto, dimetildissulfeto e dimetiltrissulfeto, sendo que o sulfeto volátil mais importante produzido é dimetilsulfeto (WATSON & JÜTTNER, 2017; ACHYUTHAN *et al.*, 2017). Esses compostos podem ser derivados de

aminoácidos, como a metionina, formando dimetilsulfoniopropionato (GIORDANO, M., & PRIORETTI, 2014). A partir da desmetilação do dimetilsulfoniopropionato, ele forma metanotiol que pode ser convertido em dimetilsulfeto por metilação (CURSON *et al.*, 2017; ACHYUTHAN *et al.*, 2017).

Os compostos de odor desejáveis e indesejáveis estão presente no meio ambiente, decorrentes de processos naturais e artificiais, pela geração de COVs (JACOB-LOPES & FRANCO, 2013). Considerando a biossíntese de COVs pelas microalgas, embora dependente da espécie, sua produção pode ser modificada por vários fatores bióticos e abióticos, como fase de crescimento, estresses (temperatura, intensidade de luz, pH, salinidade), nutrientes, gases (H₂O, CO₂, O₃), aeração (mistura / turbulência) ou cultura estática (DURME *et al.*, 2013; FRANCISCO *et al.*, 2014; ACHYUTHAN *et al.*, 2017). Assim, condições de cultivo controladas, podem influenciar na biotransformação, metabolização ou remoção de compostos voláteis do meio ambiente (VIEIRA *et al.*, 2021).

4. Desodorização de água residuária a partir de microalgas

Microalgas, são consideradas como potenciais biocatalisadores para aplicação em processos biológicos de tratamento de água residuária industrial. Além disso, os sistemas de tratamento de efluentes empregando microalgas apresentam-se ambientalmente favoráveis com um carácter sustentável, uma vez que não geram poluentes adicionais, fornecendo oportunidades de reciclagem de nutrientes e conversão de resíduos orgânicos em uma infinidade de produtos, como, biocombustíveis, nutracêuticos, polímeros, pigmentos e variedades de produtos químicos biologicamente ativos para aplicações em diversos setores da biotecnologia (FRANCISCO *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2016a; WANG *et al.*, 2017; LAURITANO *et al.*, 2018).

Além disso, pesquisas atuais demonstraram a capacidade de microalgas em desodorizar água residuária de indústria frigorífica (VIEIRA *et al.*, 2019; 2021). Águas residuais liberam uma variedade de grupos de poluentes atmosféricos que podem ser gerados em cada etapa do tratamento da água residual, causando a formação de precursores de compostos odoríferos com diferentes limiar de percepção (LEBRERO *et al.*, 2013; LEWKOWSKA *et al.*, 2016). A Tabela 1 apresenta compostos orgânicos voláteis detectados em água residuária da indústria de processamento de carnes.

Tabela 1. Compostos de odor de água residuária.

Compostos	Fórmula química	LP ^a (µg.m ⁻³)	Descritor do odor ^a
dissulfeto de carbono	CS ₂	3×10 ²	desagradável, pútrido
dimetil sulfeto	C ₂ H ₆ S	2×10 ⁴	repolho, sulfuroso
2-propenal	C ₃ H ₄ O	7×10 ²	queimado
2-metilfurano	C ₅ H ₆ O	3.5×10 ³	carne assada
Butanal	C ₄ H ₈ O	1.5×10 ⁴	doce
2-metilbutanais	C ₅ H ₁₀ O	1×10 ³	amêndoa
3-metilbutanais	C ₅ H ₁₀ O	2×10 ²	malte, óleo
Tolueno	C ₇ H ₈	5.95×10 ⁵	naftalina
dissulfeto dimetil	C ₂ H ₆ S ₂	3.5×10 ³	repolho podre, putrefação
Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	2×10 ²	grama, gordura
1,4-cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	Na ^b	especiaria
Limoneno	C ₁₀ H ₁₆	1.7×10 ³	limão
1,8-cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	1.3×10 ³	especiaria
1 pentanol	C ₅ H ₁₂ O	5×10 ²	frutado
α-terpineno	C ₁₀ H ₁₆	na	limão
p-cimeno	C ₁₀ H ₁₄	7.1×10 ³	limão, frutado, combustível
ciclohexanona	C ₆ H ₁₀ O	3×10 ²	pimenta, acetona
2-heptanol	C ₇ H ₁₆ O	1×10 ⁵	erva
pirrolidina-2,4-diona	C ₄ H ₅ NO ₂	na	na
Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	1×10 ¹	flor, verde
dimetil trissulfide	C ₂ H ₆ S ₃	1×10 ²	podre
1-heptanol	C ₇ H ₁₆ O	2.5×10 ⁶	verde
3-propilciclopenteno	C ₈ H ₁₄	na	na
benzaldeído	C ₇ H ₆ O	1×10 ¹	queimado
Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	1.4×10 ²	flor
Fenchol	C ₁₀ H ₁₈ O	5×10 ⁴	cânfora
4-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	3.4×10 ⁻¹	mofo
2-octen-1-ol	C ₈ H ₁₆ O	5×10 ⁴	sabão, plástico
1-nonanol	C ₉ H ₂₀ O	5×10 ¹	gordura
fenilacetaldéido	C ₈ H ₈ O	4×10 ³	mel
acetofenona	C ₈ H ₈ O	6.5×10 ⁻¹	mofo, flor
limonen-4-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	na	menta fresca
α-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	2.5×10 ⁵	óleo, hortelã
álcool benzílico	C ₇ H ₈ O	2×10 ⁸	doce, flor
2-feniletanol	C ₈ H ₁₀ O	8.6×10 ⁴	flor
o-cresol	C ₇ H ₈ O	2×10 ¹	medicinal, fenólico
Fenol	C ₆ H ₆ O	2×10 ⁴	borracha, medicinal
p-cresol	C ₇ H ₈ O	2×10 ¹	sintético, fenol
Indol	C ₈ H ₇ N	3×10 ⁻¹	fecal
Escatol	C ₉ H ₉ N	5.6×10 ⁻⁴	fecal

^aLimiar de percepção^bna: não avaliadoAdaptado de Vieira *et al.*, 2019.

Estes COVs podem liberar uma variedade de odores que vai do agradável ao mais intenso e fétido. Assim, muitas são as tecnologias de redução de odor e são comumente classificadas em técnicas físicas, químicas e biológicas (ALFONSIN *et al.*, 2015). A Norma Europeia 12255-9 (2002), recomenda a oxidação biológica, a oxidação química, a adsorção e oxidação térmica. No entanto, os métodos físicos e químicos de purificação de compostos de odor, apesar de comprovarem sua eficiência e confiabilidade e continuarem a ocupar seu nicho, ainda existem diversas desvantagens. Entre eles o alto custo de investimento e operação, além da possível geração de fluxos secundários de resíduos (BAJPAI, 2014; ALFONSIN *et al.*, 2015).

Em contrapartida, os sistemas de tratamento biológico de odores utilizam processos bioquímicos para decompor compostos odoríferos. Estes métodos possuem a vantagem de converter os poluentes em produtos de oxidação como por exemplo, dióxido de carbono, água etc. São métodos de baixo custo, com simplicidade operacional e são considerados "tecnologias limpas", pois reduzem ou eliminam a necessidade de tratamento adicional dos produtos finais (BURGESS, PARSONS & STUETZ, 2001; BAJPAI, 2014; CHENG *et al.*, 2021).

Os métodos biológicos têm um amplo espectro de aplicações. São considerados os sistemas mais competitivos para a desodorização de poluentes do ar caracterizados por altas taxas de fluxo e baixas concentrações de contaminantes (SADDOUD & SAYADI, 2007; VIKRANT *et al.*, 2017). Além disso, o tratamento biológico é ambientalmente seguro, pois não produz compostos tóxicos prejudiciais à saúde ou ao meio ambiente. Geralmente é operado em condições naturais (temperatura e pressão atmosféricas normais).

Estes métodos para o tratamento de COVs incluem biofiltros, bioscrubbers (bio-lavador), biorreatores de membrana e filtros de *biotrickling* (filtro biológico percolador). Nestes métodos, os poluentes são degradados biologicamente por microrganismos aeróbios (VIKRANT *et al.*, 2017). No entanto, estas tecnologias apesar de serem consideradas amigas da natureza, apresentam desvantagens como quedas excessivas de pressão, acúmulo gradual de subprodutos ácidos, dificuldade em controlar os parâmetros biológicos de operação, entupimento devido ao acúmulo de grande quantidade de biofilme e redução da eficiência do tratamento em altas concentrações de

poluentes, além do alto custo de investimento (LEWKOWSKA *et al.*, 2016; VIKRANT *et al.*, 2017).

Assim, novas tecnologias de redução de odor têm sido amplamente investigadas como alternativas economicamente eficientes e confiáveis para a mitigação dos odores. Pesquisas utilizando bioprocessos baseados em microalgas demonstra ser uma tecnologia inovadora para desodorização de água residuária em estações de tratamento por ser uma alternativa econômica e ecologicamente correta, cuja flexibilidade metabólica é uma vantagem, pois converte moléculas polares e apolares de efluentes (VIEIRA *et al.*, 2019; JACOB-LOPES *et al.*, 2020).

Bioprocessos baseado em microalgas no tratamento de controle de COVs desagradáveis encontrados em água residuária de processamento de aves e suínos, apresentaram uma eficiência de remoção de 99,6% (VIEIRA *et al.*, 2019). No entanto, ao ser realizado análise olfatométrica os pesquisadores constataram que não foi percebido nenhum descritor de odor desagradável após o período de 72 horas de tempo de residência celular, no qual concluíram que 100% dos compostos voláteis desagradáveis foram removidos da água residuária (VIEIRA *et al.*, 2021).

Tecnologias de tratamento de odores em estações de tratamento de água residuária demonstraram que a eficiência de remoção de odores variou entre 70 a 95% (LEBRERO *et al.*, 2013). Pesquisas também mostraram uma eficiência de remoção de 99,7% da emissão de odores de águas residuárias de suínos com o uso de células microbianas, no entanto o tempo de residência total foi de 260 horas (LOGAN *et al.*, 2008). Assim, é possível perceber a capacidade do biorreator heterotrófico microalgal em mitigar os odores mais desagradáveis do efluente do processamento de carnes em um curto período de tempo.

As tecnologias atuais de controle de odor, ainda apresentam problemas para remover o indol e o escatol, ambos COVs são considerados um dos principais marcadores de odor de instalações de tratamento de água residuária do abate e processamento animal. Além disso, estes compostos estão presentes simultaneamente dos componentes estruturais hidrofóbicos e hidrofílicos (MATIAS *et al.*, 2015; LEWKOWSKA *et al.*, 2016). As microalgas apresentaram a capacidade em mitigar odores como indol e escatol, além da remoção de compostos hidrofóbicos, como terpenos e poluentes atmosféricos perigosos,

como dissulfeto de carbono, acroleína, tolueno, acetofenona, o-cresol, fenol e p-cresol (EPA, 2008; VIEIRA *et al.*, 2021).

Sistemas baseados em microalgas como uma tecnologia de tratamento de odor superam as desvantagens encontradas nas tecnologias já existentes. A tecnologia que utiliza microalgas, apesar de apresentar um alto custo inicial de implantação, não apresenta problemas de processo significativos. Além do mais, biorreatores microalgais podem ser utilizados em conjuntos com outras etapas de processo, como conversão de matéria orgânica e nutrientes da água residuária em uma infinidade de bioprodutos, reduzindo assim o custo de processo (SANTOS *et al.*, 2016a; WANG *et al.*, 2017; LAURITANO *et al.*, 2018; DEPRÁ *et al.*, 2019).

Apesar de estudos relatarem que as microalgas podem produzir compostos desagradáveis, como a presença de 2-MIB e geosmina (MEENA *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2017; LIATO & AÏDER, 2017), estes compostos não foram detectados em pesquisas realizadas com a microalga *Phormidium autumnale* (SANTOS *et al.*, 2016a; VIEIRA *et al.*, 2019; 2021). Sabe-se que estes compostos podem ser facilmente liberados por muitas microalgas devido a fatores biótico e abióticos, no entanto, o uso de biorreatores facilitam o controle de temperatura e pH, além do tempo de residência celular.

Vieira *et al.* (2021), demonstraram que sistemas baseados em microalgas além de biodegradar compostos de odor desagradável da água residuária, também conseguiu biotransformar e produzir novos compostos voláteis, maximizando o aproveitamento da biomassa microalgal, ao mesmo tempo que se reduz o impacto ambiental gerado por estes resíduos. Pesquisas com relação a COVs gerados por microalgas tem sido realizado atualmente, e estas apresentam um amplo espectro de classes de voláteis, podendo ser utilizadas como aromas, aditivos alimentares ou na geração de energia (SANTOS *et al.*, 2016b; VIEIRA, PINHEIRO & ZEPKA, 2020).

5. Aplicação industrial de compostos orgânicos voláteis de microalgas

As microalgas produzem uma variedade de COVs que podem ser aplicados como uma importante fonte alternativa de produtos químicos a granel e finos. Os compostos propanol, butanol, 3-metil-butanol, hexanol, hexanal, β -ciclocitral e β -ionona produzidos por microalgas possuem um apelo comercial

(SANTOS *et al.*, 2016b). Estes compostos de aromas gerados por microalgas podem competir com fontes tradicionais. A elucidação das vias metabólicas e precursores e a aplicação da bioengenharia convencional resultou em um conjunto de mais de 100 aromas químicos derivados da biotecnologia (BERGER, 2009).

O mercado global de compostos aromáticos deve atingir US\$ 8,2 bilhões em 2027, sendo os terpenos a classe de compostos predominante neste mercado (GLOBAL AROMA CHEMICALS MARKET, 2021). Outras classes também de grande interesse são os álcoois e os aldeídos, sendo importantes componentes do aroma amplamente aplicados em cosméticos, perfumaria e indústrias alimentícias (SANTOS *et al.*, 2016b; PINHEIRO *et al.*, 2019).

A identificação detalhada de tais compostos é muito importante devido aos seus impactos diretos nas propriedades aromáticas do produto final enriquecido com biomassa de microalgas (SANTOS *et al.*, 2016a; ROBERTSON *et al.*, 2016; ZHOU *et al.*, 2017). Segundo Hosoglu (2018), compostos identificados como sendo responsáveis por tais características aromáticas são diferenciados em categorias tais como hidrocarbonetos, aldeídos, álcoois, ésteres, cetonas, e enxofre. Tabela 2 apresenta compostos voláteis detectado em microalgas.

Tabela 2. Compostos voláteis detectados em diferentes espécies de microalgas.

Compostos voláteis	Microalgas
Terpenos	
α -ionona	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloopsis</i>
β -ciclocitral	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Nostoc</i> sp., <i>Phormidium autumnale</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Spirulina platensis</i> , <i>Tetraselmis chuii</i>
β -ionona	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloopsis</i> , <i>Spirulina platensis</i> , <i>Nostoc</i> sp.
geosmina	<i>Anabaena lemmermannii</i> , <i>Anabaena circinalis</i> , <i>Anabaena solitaria</i> , <i>Anabaena viguieri</i> , <i>Aphanizomenon gracile</i> , <i>Geitlerinema splendidum</i> , <i>Leibleinia subtilis</i> , <i>Microcoleus</i> sp., <i>Phormidium allorgei</i> , <i>Phormidium amoenum</i> , <i>Phormidium breve</i> , <i>Phormidium cortianum</i> , <i>Phormidium formosum</i> , <i>Phormidium simplicissimum</i> <i>Phormidium</i> sp.

2-metilisoborneol	<i>Oscillatoria curviceps</i> , <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Oscillatoria tenuis</i> , <i>Oscillatoria variabilis</i> , <i>Phormidium autumnale</i> , <i>Phormidium breve</i> , <i>Phormidium calcícola</i> , <i>Phormidium favosum</i> , <i>Phormidium tenue</i> , <i>Phormidium sp.</i>
geraniol	<i>Synechococcus</i>
mentol	<i>Phormidium autumnale</i>
citronelol	<i>Oocystis pusilla</i>
linalol	<i>Chlorella sp.</i> , <i>Chlamydomonas sp.</i> , <i>Oocystis pusilla</i>

Aldeídos

Benzaldeído	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas sp.</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i> .
Heptanal	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas sp.</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i> , <i>Dicrateria inornata</i>
Hexanal	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas sp.</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Phormidium</i> <i>autumnale</i> , <i>Schizochytrium limacinum</i>
2-metilpropanal	<i>Phormidium autumnale</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chaetoceros</i> <i>calcitrans</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i> , <i>Platymonas helgolandica</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
3-metilbutanal	<i>Rhodomonas sp.</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Phormidium autumnale</i>
nonanal	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas sp.</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i> , <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Platymonas helgolandica</i> , <i>Cryptocodinium cohnii</i> , <i>Schizochytrium limacinum</i> , <i>Chlorella</i> <i>prothecoides</i>
2,6-nonadienal	<i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Thalassiosira</i> <i>weissflogii</i> , <i>Platymonas helgolandica</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i> , <i>Dicrateria inornata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i>
2-octenal	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Thalassiosira</i> <i>weissflogii</i> , <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Dicrateria inornata</i>
2-pentenal	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas sp.</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
acetaldeído	<i>Phormidium autumnale</i>

Sulfurados

benzotiazol	<i>Phormidium autumnale</i> , <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros</i> <i>calcitrans</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i> , <i>Platymonas helgolandica</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i> , <i>Dicrateria inornata</i>
dissulfeto dimetil	<i>Rhodomonas sp.</i> , <i>Tetraselmis chuii</i>
dimetil sulfeto	<i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Chlorella protothecoides</i> , <i>Chlorella</i> <i>vulgaris</i> , <i>Cryptocodinium cohnii</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i> ,

	<i>Oscillatoria chalybea</i> , <i>Oscillatoria tenuis</i> , <i>Phormidium autumnale</i> , <i>Plectonema boryanum</i> , <i>Synechococcus cedrorum</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i>
dimetil trissulfide	<i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i>
Álcool	
Benzil álcool	<i>Phormidium autumnale</i> , <i>Crypthecodinium cohnii</i> , <i>Schizochytrium limacinum</i> , <i>Chlorella prothecoides</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
cis-2-penten-1-ol	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
Etanol	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
1-hexanol	<i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Phormidium autumnale</i>
3-hexen-1-ol	<i>Chlorella vulgaris</i>
2-etil-1-hexanol	<i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Spirulina platensis</i> , <i>Nostoc</i> sp.
ciclohexanol	<i>Phormidium autumnale</i>
isobutanol	<i>Phormidium autumnale</i>
2-metilbutanol	<i>Tetraselmis</i> sp.; <i>Nannochloropsis</i> , <i>Chlorella vulgaris</i>
3-metilbutanol	<i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Phormidium autumnale</i>
1-octen-3-ol	<i>Rhodomonas</i> sp., <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Crypthecodinium cohnii</i> , <i>Chlorella prothecoides</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Schizochytrium limacinum</i>
2-feniletil álcool	<i>Crypthecodinium cohnii</i>
1-pentanol	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
1-penten-3-ol	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia Closterium</i> , <i>Phormidium autumnale</i>
2-metil-1-pentanol	<i>Phormidium autumnale</i>
Hidrocarbonetos	
2,4-dimetilheptano	<i>Scenedesmus obliquus</i>
dodecano	<i>Microcystis flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i>
heptadecano	<i>Spirulina platensis</i> , <i>Nostoc</i> sp., <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i> , <i>Platymonas helgolandica</i> ,

	<i>Nannochloropsis</i> sp., <i>Dicrateria inornata</i> , <i>Microcystis flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i>
hexadecano	<i>Spirulina platensis</i> , <i>Nostoc</i> sp., <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i> , <i>Platymonas helgolandica</i> , <i>Nannochloropsis</i> sp., <i>Dicrateria inornata</i> , <i>Microcystis flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i>
pentadecano	<i>Spirulina platensis</i> , <i>Nostoc</i> sp., <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i> , <i>Platymonas helgolandica</i> , <i>Nannochloropsis</i> sp., <i>Dicrateria inornata</i>
tetradecano	<i>Spirulina platensis</i> , <i>Nostoc</i> sp., <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i> , <i>Platymonas helgolandica</i> , <i>Nannochloropsis</i> sp., <i>Dicrateria inornata</i> , <i>Microcystis flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i>
tridecano	<i>Microcystis flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i>
Furanos	
2-etilfurano	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
2-pentilfurano	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
Cetonas	
3-hidroxi-2-butanona	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
acetil valeril	<i>Phormidium autumnale</i>
2,3-butanediona	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
2-heptanona	<i>Phormidium autumnale</i>
6-metil-5-hepten-2-ona	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis</i> , <i>Phormidium autumnale</i> .
2-octanediona	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
2-nonanona	<i>Phormidium autumnale</i>
3,5-octadien-2-ona	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Dicrateria inornata</i> , <i>Platymonas helgolandica</i>
2-propanona	<i>Scenedesmus obliquus</i>
2,3-pentenediona	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i>
1-penten-3-ona	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nitzschia closterium</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Dicrateria inornata</i> , <i>Platymonas helgolandica</i>

Ésteres

metil octanoato	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis</i> sp., <i>Nannochloopsis</i> , <i>Cryptothecodinium cohnii</i> , <i>Chlorella prothecoides</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Schizochytrium limacinum</i>
metil 3-metil 2- hidroxibutanoato	<i>Phormidium autumnale</i>
metil penilacetato	<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Tetraselmis chuii</i> , <i>Nannochloopsis</i> , <i>Cryptothecodinium cohnii</i> , <i>Chlorella prothecoides</i> , <i>Schizochytrium limacinum</i>
2-metoxi-2- metilpropano	<i>Scenedesmus obliquus</i>

Adaptado de Vieira, Pinheiro, Zepka *et al.*, (2020).

A utilização da fração volátil da biomassa de microalgas pode representar uma melhoria na oferta para diferentes tipos de indústria. As microalgas são bem conhecidas pela capacidade de produção futura de biodiesel por apresentarem alta produtividade, biossíntese lipídica eficiente e praticamente não competem com as terras agricultáveis para a produção de alimentos (JACOB-LOPES *et al.*, 2019). Também possuem robustez para capturar gases de efeito estufa, principalmente o CO₂ atmosférico, e se bioconverter em múltiplos bioprodutos. Esses excedentes provavelmente estarão disponíveis a um custo mínimo ou nenhum custo, o que favorece a abordagem da biorrefinaria de microalgas (DEPRÁ *et al.*, 2018).

Os compostos orgânicos voláteis são considerados bioprodutos gasosos do metabolismo microalgal, podendo ser recuperados na forma de gases de exaustão. Esses sistemas podem produzir COVs com potencial energético. O potencial de energia dos COVs produzidos no biorreator heterotrófico pode variar de $3,48 \times 10^9$ a $8,67 \times 10^9$ MJ kg⁻¹, totalizando conteúdo de energia de $1,22 \times 10^{13}$ MJ kg⁻¹. Além disso, a taxa de geração de energia pode chegar a $1,01 \times 10^{12}$ MJ. m⁻³. d⁻¹ sob essas condições de cultivo (SEVERO *et al.*, 2019; JACOB-LOPES *et al.*, 2020).

Considerando as estruturas químicas deste compostos, alguns álcoois apresentaram potencial energético comparável ao da gasolina (SANTOS *et al.*, 2016b; PINHEIRO *et al.*, 2019). Além disso, Halfmann, Gu e Zhou (2014), demonstraram que os compostos terpênicos possuem características atrativas

como biodiesel e querosene de aviação. Da mesma forma, os hidrocarbonetos voláteis fornecem características de combustão desejáveis. Os aldeídos e cetonas podem ser considerados compostos intermediários de álcoois e hidrocarbonetos (MEENA *et al.*, 2017; ACHYUTHAN *et al.*, 2017).

6. Conclusão

Sistemas baseados em microalgas podem ser amplamente considerados como uma solução para resolver os diversos desafios da humanidade em relação aos problemas ambientais. As microalgas já são conhecidas por apresentarem potencial no processo de recuperação de efluentes, reduzindo o uso de energia de estratégias de gerenciamento de resíduos e regenerar nutrientes incluindo carbono, fósforo e nitrogênio. Além disso, apresentam a capacidade de desodorizar água residuária, e simultaneamente produzir uma variedade de compostos voláteis de interesse comercial. A integração deste tipo de processo pode abordar as questões de sustentabilidade energética e reciclagem de resíduos no âmbito da bioeconomia circular, reduzindo os custos de produção de microalgas, aumentando a eficiência e a rentabilidade do processo. Embora o futuro para aplicações de sistemas baseados em microalgas pareça promissor, ainda há um longo caminho a ser percorrido para que se torne uma parte importante da indústria moderna.

7. Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica PROCAD/ CAPES, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

8. Referências

- ACHYUTHAN, K. E., HARPER, J. C., MANGINELL, R. P., MOORMAN, M. W. Volatile metabolites emission by in vivo microalgae-an overlooked opportunity? **Metabolites**, v.7, p.3, 2017. <https://doi.org/10.3390/metabo7030039>.
- ALFONSÍN, C., LEBRERO, R., ESTRADA, J. M., MUNÓZ, R., KRAAKMAN, N.J.R., FEIJOO, G., MOREIRA, M.T. Selection of odour removal technologies in wastewater treatment plants: a guideline based on life cycle assessment.

Journal of Environmental Management, v.149, p.77–84, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.10.011>.

BAJPAI, P. **Removal of Odours**, in: **Springer Briefs in Environmental Science**, Biological Odour Treatment, 2014. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-07539-6>.

BASRI, R.S., ZALIHA, R.N., RAHMAN, R.A., KAMARUDIN, N.H.A., ALI, M.S.M. Cyanobacterial aldehyde deformylating oxygenase: Structure, function, and potential in biofuels production. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.164, p.3155-3162, 2020.

BERENJIAN, A., CHAN, N., & MALMIRI, H.J. Volatile organic compounds removal methods: a review. **Journal Biochemistry, Biotechnology**, v.8, p.220-229, 2012. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2012.220.229>.

BERGER, R.G. Biotechnology of flavours – the next generation. **Biotechnology Letters**, v.31, p.1651-1659, 2009. <https://doi.org/10.1007/s10529-009-0083-5>.

BRAVO-LAMAS, L., BARRON, L.J., FARMER, L., ALDAI, N. Fatty acid composition of intramuscular fat and odour-active compounds of lamb commercialized in northern chromatography with mass spectrometry. **Journal Chromatography A**, v.1350, p.92-101, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.02.006>.

BURGESS, J.E., PARSONS, S.A. & STUETZ, R.M. Developments in odour control and waste gas treatment biotechnology: a review. **Biotechnology Advances**. v.19, p.35-63, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00058-6](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00058-6).

CALVIN, M., & BENSON, A.A. The path of carbon in photosynthesis. **Science**, v.107, p.476-480, 1948. <https://doi.org/10.1126/science.107.2784.476>.

CAPELLI, L., SIRONI, S., DEL ROSSO, R., CÉNTOLA, P. Predicting odour emissions from wastewater treatment plants by means of odour emission factors. **Water Research**, v.43, p.1977-1985, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.01.022>.

CHENG, H.H., LU, I.C., HUANG, P.W., WU, Y.J.; WHANG, L.M. Biological treatment of volatile organic compounds (VOCs)-containing wastewaters from

wet scrubbers in semiconductor industry. **Chemosphere**, v.282, p.131137, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131137>.

CURSON, A. R. J., LIU, J., BERMEJO MARTÍNEZ, A., GREEN, R. T., CHAN, Y., CARRIÓN, O., WILLIAMS B. T., ZHANG, S. H., YANG, G. P., BULMAN PAGE, P. C., ZHANG, X. H., & TODD, J. D. Dimethylsulfoniopropionate biosynthesis in marine bacteria and identification of the key gene in this process. **Nature Microbiology**, v.2, 2017. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.9>.

DEPRÁ, M.C., SANTOS, A.M., SEVERO, I.A., SANTOS, A.B., ZEPKA, L.Q., JACOB-LOPES, E. Microalgal biorefineries for bioenergy production: can we move from concept to industrial reality? **BioEnergy Research**, v.11, p.727-747, 2018. <https://doi.org/10.1007/s12155-018-9934-z>.

DEPRÁ, M.C.; MÉRIDA, L.G.R.; MENEZES, C.R.; ZEPKA, L.Q.; JACOB-LOPES, E. A new hybrid photobioreactor design for microalgae culture. **Chemical Engineering Research and Design**, v.144, p.1-10, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.01.023>.

DOMENO, C., RODRÍGUEZ-LAFUENTE, A., MARTOS, J.M., BILBAO, R., NERÍN, C. VOC removal and deodorization of effluent gases from an industrial plant by photooxidation, chemical oxidation, and ozonization. **Environment Science & Technology**, v..44, p.2585-2591, 2010. <https://doi.org/10.1021/es902735g>.

DUDAREVA, N., KLEMPIEN, A., MUHLEMANN, J.K., KAPLAN, I. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v.198, p.16-32, 2013. <https://doi.org/10.1111/nph.12145>.

DURME, J.V., GOIRIS, K., DE WINNE, A., DE COOMAN, L., MUYLAERT, K. Evaluation of the volatile composition and sensory properties of five species of microalgae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, p.10881-10890, 2013. <https://doi.org/10.1021/jf403112k>.

EN 12255-9:2002. European Standard on Wastewater treatment plants – Part 9: **Odour control and ventilation**. European Committee for Standardization (CEN), Brussels, January, 2002.

FRANCISCO, É. C., FRANCO, T. T., WAGNER, R., & JACOB-LOPES, E. Assessment of different carbohydrates as exogenous carbon source in cultivation of cyanobacteria. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v.37, p.1497-1505, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1121-1>.

GIORDANO, M., & PRIORETTI, L. **Sulphur and algae: metabolism, ecology and evolution**. In: Borowitzka MA, Beardall J, Raven JA (eds) Microalgal physiology. Springer, Dordrecht, p.185-209, 2016. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24945-2_9.

GLOBAL AROMA CHEMICALS MARKET (2021 to 2026) - Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecasts. July 02, 2021 08:33 ET | Source: Research and Markets, acessado em Agosto de 2021. <https://www.globenewswire.com/news-release/2021/07/02/2257148/28124/en/Global-Aroma-Chemicals-Market-2021-to-2026-Industry-Trends-Share-Size-Growth-Opportunity-and-Forecasts.html>.

HALFMANN, C., GU, L., & ZHOU, R. Engineering cyanobacteria for the production of a cyclic hydrocarbon fuel from CO₂ and H₂O. **Green Chemistry**, v.16, p.3175-3185, 2014. <https://doi.org/10.1039/c3gc42591f>.

HAN, G., ZHANG, L., LI, Q., WANG, Y., CHEN, Q., KONG, B. Impacts of different altitudes and natural drying times on lipolysis, lipid oxidation and flavour profile of traditional Tibetan yak jerky. **Meat Science**, v.162, p.108030, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108030>.

HERRERO, A., MURO-PASTOR, A. M., FLORES, E. Nitrogen control in cyanobacteria. **Journal of bacteriology**, v.183, p.411-425, 2001. <https://doi.org/10.1128/JB.183.2.411-425.2001>.

HOSOGLU, M. I. Aroma characterization of five microalgae species using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry. **Food Chemistry**, v.240, p.1210-1218, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.052>.

JACOB-LOPES, E., & FRANCO, T. T. From oil refinery to microalgal biorefinery. **Journal of CO₂ Utilization**, v.2, p.1-7, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2013.06.001>.

JACOB-LOPES, E., MARONEZE, M.M., DEPRÁ, M.C., SARTORI, R.B., DIAS, R.R., ZEPKA, L.Q. Bioactive food compounds from microalgae: An innovative framework on industrial biorefineries. **Current Opinion in Food Science**. In Press. v.25, p.1-7, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.12.003>.

JACOB-LOPES, E., SANTOS, A. B., SEVERO, I. A., DEPRÁ, M. C., MARONEZE, M. M., & ZEPKA, L. Q. Dual production of bioenergy in heterotrophic cultures of cyanobacteria: Process performance, carbon balance, biofuel quality and sustainability metrics. **Biomass and Bioenergy**, 142, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105756>.

JERKOVIĆ, I., MARIJANOVIĆ, Z., ROJE, M., KÚS, P.M., JOKIĆ, S., ČOŽ-RAKOVAC, R. Phytochemical study of the headspace volatile organic compounds of fresh algae and seagrass from the Adriatic Sea (single point collection). **Plos One**. v.13, p.1-13, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196462>.

KONG, W., SHEN, B., LYU, H., KONG, J., MA, J., WANG, Z., FENG, S. Review on carbon dioxide fixation coupled with nutrients removal from wastewater by microalgae. **Journal of Cleaner Production**, v.292, p.125975, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.125975>.

LAURITANO, C., MARTIN, J., CRUZ, M., REYES, F., ROMANO, G., LANORA, A. First identification of marine diatoms with anti-tuberculosis activity. **Science Reports**, v.8, p.1-10, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20611-x>.

LEBRERO, R., VOLCKAERT, D., PÉREZ, R., MUNÓZ R., VAN LANGENHOVE, H. A membrane bioreactor for the simultaneous treatment of acetone, toluene, limonene and hexane at trace level concentrations. **Water Research**, v.47, 2199-2212, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.041>.

LEE, J., RAI, P.K., JEON, Y.J., KIM, K.H., KWON, E.E. The role of algae and cyanobacteria in the production and release of odorants in water. **Environmental Pollution**, v.227, p.252-262, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.058>.

LEWKOWSKA, P., CIEŚLIK, B., DYMERSKI, T., KONIECZKA, P., & NAMIEŚNIK, J. Characteristics of odors emitted from municipal wastewater treatment plant and methods for their identification and deodorization techniques.

Environmental Research, 151, 573-586, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.08.030>.

LIAO, J. C., MI, L., PONTRELLI, S., & LUO, S. Fuelling the future: Microbial engineering for the production of sustainable biofuels. **Nature Reviews Microbiology**, 14(5), 288-304, 2016. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.32>.

LIATO, V., & AÏDER, M. Geosmin as a source of the earthy-musty smell in fruits, vegetables and water: Origins, impact on foods and water, and review of the removing techniques. **Chemosphere**, v.181, p.9-18, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.039>.

LOGAN, B.E., D. CALL, D., S. CHENG, S., HAMELERS, H.V.M., SLEUTELS, A.W. JEREMIASSE, T.H.J.A., ROZENDAL, R.A. Microbial electrolysis cells for high yield hydrogen gas production from organic matter. **Environmental Science Technology**, v.42, p.8630-8640, 2008. <https://doi.org/10.1021/es801553z>.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. Editora RiMa, p.51-60, 2006.

MATIAS, T., MARQUES, J., QUINA, M.J., GANDO-FERREIRA, L., VALENTE, A.J.M., PORTUGAL, A., DURÃES, L. Silica-based aerogels as adsorbents for phenol-derivative compounds. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.480, p.260-269, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.01.074>.

MEENA, S., KUMAR, S.R., DWIVEDI, V., KUMAR SINGH, A.K., CHANOTIYA, C.S., AKHTAR, Q., KUMAR, K., SHASANY, A.K., NAGEGOWDA, D.A. Transcriptomic insight into terpenoid and carbazole alkaloid biosynthesis, and functional characterization of two terpene synthases in curry tree (*Murraya koenigii*). **Science Reports**, v.7, p.44126, 2017.
<https://doi.org/10.1038/srep44126>.

MOORE, J.P. (Ed.), **Volatile organic compounds: occurrence, behavior and ecological implications**, ed. Nova Science Publishers, New York, pp. 1-18, 2001.

MUÑOZ, R., MALHAUTIER, L., FANLO, J.L., QUIJANO, G. Biological technologies for the treatment of atmospheric pollutants. **International Journal**

Environmental Analytical Chemistry, v.95, p.950-967, 2015.
<https://doi.org/10.1080/03067319.2015.1055471>.

NASCIMENTO, T.C.; CAZARIN, C.B.B., MARÓSTICA JR, M.R.; RISSO, E.M.; AMAYA-FARFAN, J.; GRIMALDI, R.; MERCADANTE, A.Z.; JACOB-LOPES, E., ZEPKA, L.Q. Microalgae biomass intake positively modulates serum lipid profile and antioxidant status. **Journal of Functional Foods**, v.58, p. 11-20, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.047>.

NOREÑA-CARO, D & BENTON, M.G. Cyanobacteria as photoautotrophic biofactories of high-value chemicals. **Journal of CO₂ Utilization**, v.28, p.335-366, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2018.10.008>.

PEREZ-GARCIA, & BASHAN. **Algal biorefineries: Volume 2: Products and refinery design**. In *Algal Biorefineries: Volume 2: Products and Refinery Design*, 2015. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-20200-6>.

PINHEIRO, P. N., VIEIRA, K. R., SANTOS, A. B., JACOB-LOPES, E., ZEPKA, L. Q. **Biogenesis of Volatile Organic Compounds in Microalgae-Based Systems**. In: Gokare A. Ravishankar and Ranga Rao Ambati. (Org.). *Handbook of Algal Technologies and Phytochemicals - Food, Health and Nutraceutical Applications*. 1ed. Boca Raton: CRC Press, 2019, v. 1, p. 100-110.

POVEDA, J. Beneficial effects of microbial volatile organic compounds (MVOCs). **Applied Soil Ecology**, v.168, p.104118, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104118>.

ROBERTSON, R.C.; MATEO, M.R.G.; O'GRADY, M.N.; GUIHENEUF, F.; STENGEL, D.B.; ROSS, R.P.; FITZGERALD, G.F.; KERRY, J.P.; STANTON, C. An assessment of the techno-functional and sensory properties of yoghurt fortified with a lipid extract from the microalga *Pavlova lutheri* Innovative. **Food Science and Emerging Technologies**, v.37, p.237-246, 2016.

SADDOUD, A., & SAYADI, S. Application of acidogenic fixed-bed reactor prior to anaerobic membrane bioreactor for sustainable slaughterhouse wastewater treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v.149, p.700-706, 2007.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.04.031>.

SANTOS, A. B., FERNANDES, A. S., WAGNER, R., JACOB-LOPES, E., ZEPKA, L. Q. Biogenesis of volatile organic compounds produced by *Phormidium autumnale* in heterotrophic bioreactor. **Journal of Applied Phycology**. v.28, p.1561-1570, 2016a. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0740-0>.

SANTOS, A.B., VIEIRA, K.R., NOGARA, G.P., WAGNER, R., JACOB-LOPES, E., ZEPKA, L.Q. **Biogenesis of Volatile Organic Compounds by Microalgae/cyanobacteria: Occurrence, Behavior, Ecological Implications and Industrial Applications**. In: Moore, J. P. (Org.). Volatile Organic Compounds: Occurrence, Behavior and Ecological Implications. 1ed.: Nova Science Publishers. New York. Current Biotechnology, v.4, p.249-254, 2016b.

SANTOS, A.M., SANTOS, A. M., SARTORI, R.B., QUEIROZ, L. Z., BARIN, J. S., JACOB-LOPES, E., Nutrient cycling in meat processing industry by microalgae/cyanobacteria-based processes. **Desalination and Water Treatment**. v.100, p.91-99, 2017. <https://doi.org/10.5004/dwt.2017.21719>.

SEVERO, I.A., DEPRÁ, M.C., DIAS, R.R., JACOB-LOPES, E. **Process integration applied to microalgae-based systems**. Handbook of Microalgae-Based Processes and Products, v.1, p.709-735, 2020. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818536-0.00026-9>.

SEVERO, I.A., PINHEIRO, P.N., VIEIRA, K.R., ZEPKA, L.Q., JACOB-LOPES, E. **Biological conversion of carbon dioxide into volatile organic compounds**. In: Inamuddin *et al.* (Eds.), Conversion of carbon dioxide into hydrocarbons: v.2, ed. Springer, Cham, p. 45-73, 2020. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28638-5_2.

SEVERO, I.A., SIQUEIRA, S.F., DEPRÁ, M.C., MARONEZE, M.M., ZEPKA, L.Q., JACOB-LOPES, E. Biodiesel facilities: What can we address to make biorefineries commercially competitive? **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v.112, p.686-705, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.06.020>.

SU, Y. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v.762, p.144590, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144590>.

SUGANYA, T., VARMAN, M., MASJUKI, H.H., RENGANATHAN, S. Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with

biofuels production: A biorefinery approach. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**. v.55, p.909-941, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.11.026>.

US EPA, **Initial List of Hazardous Air Pollutants with Modifications**, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., 2008.

VIEIRA, K. R., PINHEIRO, P. N. & ZEPKA, L. Q. **Volatile organic compounds from microalgae**. In Handbook of Microalgae-Based Processes and Products. Elsevier Inc. 2020. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818536-0.00024-5>.

VIEIRA, K. R., PINHEIRO, P. N., SANTOS, A. B., CICHOSKI, A. J., MENEZES, C. R., WAGNER, R., ZEPKA, L. Q., & JACOB-LOPES, E. The role of microalgae-based systems in the dynamics of odors compounds in the meat processing industry. **Desalination and Water Treatment**. v.150, p.282-292, 2019. <https://doi.org/10.5004/dwt.2019.23730>.

VIEIRA, K.R., MARONEZE, M.M., KLEIN, B., WAGNER, R., QUEIROZ, M.I., JACOB-LOPES, E., ZEPKA, L.Q., The role of microalgae-based systems in the dynamics of odorous compounds in the meat processing industry. Part II - Olfactometry and sensory relevance. **Desalination and Water Treatment**. v.232, p.16-25, 2021. <https://doi.org/10.5004/dwt.2021.27458>.

VIKRANT, K., KIM, K. H., SZULEJKO, J. E., PANDEY, S. K., SINGH, R. S., GIRI, B. S., BROWN, R. J. C., & LEE, S. H. Bio-filters for the treatment of VOCs and odors - a review. **Asian Journal of Atmospheric Environment**, v.11, p.139-152, 2017. <https://doi.org/10.5572/ajae.2017.11.3.139>.

WANG, X., BAO, K., CAO, W., ZHAO, Y., HU, W.C. Screening of microalgae for integral biogas slurry nutrient removal and biogas upgrading by different microalgae cultivation technology. **Scientific Reports**, v.7, p.1-12, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05841-9>.

WANG, X., BAO, K., CAO, W., ZHAO, Y., HU, W.C. Screening of microalgae for integral biogas slurry nutrient removal and biogas upgrading by different microalgae cultivation technology. **Science Reports**, v.7, p.1-12, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05841-9>.

WATSON, S. B., & JÜTTNER, F. Malodorous volatile organic sulfur compounds: Sources, sinks and significance in inland waters. **Critical Reviews in**

Microbiology, v.43, p.210-237, 2017.
<https://doi.org/10.1080/1040841X.2016.1198306>.

ZARGAR, A., BAILEY, C.B., HAUSHALTER, R.W., EIBEN, C.B., KATZ, L., KEASLING, J.D. Leveraging microbial biosynthetic pathways for the generation of 'drop-in' biofuels. **Current Opinion in Biotechnology**, v.45, p.156-63, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.03.004>.

ZHOU, L., CHEN, J., XU, J., LI, Y., ZHOU, C., YAN, X. Change of volatile components in six microalgae with different growth phases. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.97, p.761-769, 2017.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.7794>.

ZHOU, Y. J., KERKHOVEN, E. J., & NIELSEN, J. Barriers and opportunities in bio-based production of hydrocarbons. **Nature Energy**, v.3, p.925-935, 2018.
<https://doi.org/10.1038/s41560-018-0197-x>.

Autores

Karem Rodrigues Vieira*, Pricila Nass Pinheiro, Tatiele Casagrande do Nascimento

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

* Autor para correspondência: merakvieira@gmail.com

Tratamento de águas residuárias utilizando microalgas/bactérias

Gustavo H. R. da Silva, Caroline M. Erba Pompei, Hugo Renan Bolzani, Letícia Alves Martins de Carvalho, Luiza Maria Fernandes

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c5>

Resumo

Consórcios microalgas-bactérias surgiram como uma alternativa promissora de tratamento de águas residuárias, devido a capacidade das microalgas removerem simultaneamente o carbono (C) (orgânico e inorgânico), nitrogênio (N) e fósforo (P), para auxiliar na oxidação bacteriana da matéria orgânica e amônio presente nos resíduos, via oxigenação fotossintética. Esta fotossíntese baseada na biorremediação proporciona uma melhor gestão no tratamento de águas residuárias em comparação com os processos aeróbios convencionais (lodos ativados) ou anaeróbios em termos de custo efetivo de remoção matéria orgânica, recuperação de nutrientes e pegada de CO₂. A sinergia estabelecida entre microalgas e bactérias pode contribuir para remoções consistentes e eficientes de poluentes e produção de biomassa. Isso se deve a elevada eficiência das microalgas em fixar CO₂ antropogênico por meio da fotossíntese, permitindo a mitigação das emissões de gases de efeito estufa, o que representa uma vantagem adicional do tratamento de águas residuárias em comparação com outras biotecnologias em termos pegada de carbono. A biomassa microalgal gerada durante o processo pode ser usada como biofertilizante ou transformada em biocombustíveis (biodiesel, bioetanol, biohidrogênio ou biometano), contribuindo assim para uma tecnologia ambientalmente sustentável. Nesse contexto, este capítulo apresenta informações importantes sobre o consórcio de microalgas e bactérias no tratamento de águas residuárias e valorização da biomassa gerada.

Palavras-chave: biomassa, interação microalgas/bactérias, remoção de nutrientes.

1. O tratamento de esgoto no Brasil

O tratamento de águas residuais pode ser realizado nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) a partir de diferentes tecnologias como, por exemplo, a utilização de fontes que permitam integrar o saneamento básico a economia circular. A nível mundial, a exigência de mudar o atual paradigma de saneamento é motivada não apenas pelos custos e consumo de energia, mas também pelo esgotamento mundial de macronutrientes não renováveis (BATSTONE *et al.*, 2015).

O acesso à rede de saneamento básico e suas diretrizes são determinadas no território brasileiro pela Lei nº 11.445, promulgada em 5 de janeiro de 2007, sendo que a ausência deste serviço ou o tratamento inadequado das águas residuais impacta negativamente a população e os ecossistemas naturais.

O último levantamento realizado pelo Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), elaborado em 2019, mostrou que a rede de esgoto era atendida apenas em cerca de 54,1% do total da população e para população urbana no Brasil em apenas 61,9%. Desta forma, aproximadamente 100 milhões de brasileiros ainda não foram atendidos pelas redes de coleta de esgoto. Ademais, é importante ressaltar que apenas 49,1% do volume total de esgoto sanitário coletado recebe tratamento adequado (SNIS, 2019), deste modo o montante remanescente é descartado *in natura* nos mananciais.

Conforme descrito por Zouboulis e Tolkou (2015) as ETEs podem apresentar até quatro etapas de tratamento: (I) Pré-tratamento, com a remoção dos sólidos grosseiros maiores que 1 milímetro; (II) Tratamento Primário, a partir da remoção de sólidos facilmente sedimentados; (III) Tratamento Secundário, com a remoção de substâncias orgânicas e; (IV) Tratamento Terciário, que consiste na remoção de sólidos inorgânicos (N e P) e patógenos.

No Brasil, as ETEs são comumente projetadas para atender a três etapas: o pré-tratamento, tratamento primário e secundário. Por este motivo, a remoção de sólidos inorgânicos não é adequada. Em conformidade aos dados da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA), dentre 3.668 ETEs, as que foram efetivamente projetadas para o tratamento terciário atendem cerca de 4 milhões de brasileiros, o que representa uma alíquota de cerca de 2,5% da

população urbana. Desta forma, 77,58% dos 5570 municípios brasileiros não apresentam tratamento terciário para P e 85,28% em relação ao N (ANA, 2017).

O descarte de esgoto em corpos hídricos *in natura* ou sem o tratamento adequado acarreta em danos ambientais e à saúde humana. A eutrofização artificial, principalmente em ambientes lênticos, pode ocorrer devido ao enriquecimento dos corpos hídricos por macronutrientes, como o N e P, presentes em elevadas concentrações no esgoto sanitário e industrial. Assim, a introdução excessiva de matéria orgânica contribui para a floração de produtores primários, como as cianobactérias, microalgas e macrófitas, levando a um desequilíbrio do ambiente aquático. Além disso, esse estresse ambiental causa prejuízos para o abastecimento de água e saúde pública (QUEVEDO, 2011).

Os processos infecciosos estão predominantemente associados à veiculação hídrica, conforme o relatório publicado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), no qual 88% das mortes ocasionadas por infecções diarreicas são ocasionadas pelo saneamento inadequado. No Brasil, as doenças resultantes da falta ou de um inadequado sistema de saneamento básico, especialmente em áreas pobres, têm agravado o quadro epidemiológico (BRASIL, 2006).

De acordo com levantamento realizado na base de dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), em 2019 as interações por diarreia e gastroenterite de origem infecciosa presumível totalizaram 117.618, sendo a maior parte destas notificações na região Norte e Nordeste, respectivamente. Ambas as regiões são relatadas como deficitárias com relação ao saneamento básico, segundo o SNIS (2019) cerca de 87,7% e 71,7% da população das regiões Norte e Nordeste não têm acesso aos serviços de esgotamento sanitário.

Paralelamente, mesmo quando há o tratamento adequado das águas residuais, os sistemas convencionais de ETEs atualmente não são projetados para tratar e remover suficientemente os contaminantes emergentes do afluente, como é o caso dos micropoluentes (SUTHERLAND; RALPH, 2019), dos patógenos (BELLUCCI *et al.*, 2020), e dos metais (DAS *et al.*, 2008). A descarga direta do efluente tratado em corpos d'água naturais aumenta a preocupação acerca destes poluentes persistentes no ecossistema aquático, como é o caso dos micropoluentes e dos metais (TIWARI *et al.*, 2017), que pode gerar dano tanto para o meio ambiente como para a vida humana diretamente.

2. Tratamento terciário via consórcio microalgas-bactérias

A etapa de tratamento terciário para a remoção de sólidos inorgânicos, patógenos e micropoluentes pode intercorrer nas ETEs por meio de processos físico-químicos ou biológicos, cada um destes apresentando suas vantagens e desvantagens. Como descrito por Howe *et al.* (2016), os processos físico-químicos aplicados são dependentes das propriedades do composto a ser removido, sendo diferentes dos presentes nas moléculas de água.

Nos processos físico-químicos são comumente utilizados processos como coagulação seguida de filtração, oxidação, amolecimento com cal, adsorção em alumina ativada, troca iônica e osmose reversa; além de processos que visam a desinfecção, como a adição de cloro, ozônio, peróxido de hidrogênio e aplicação de raios ultravioleta. Entretanto, estes processos demandam altos custos, complexidade no processo e por isso muitas vezes não são viáveis na prática (SARMAH *et al.*, 2019). Além disso, produzem grande quantidade de lodo contaminado com componentes químicos (BARNARD, 1975), sendo necessário um tratamento posterior.

Von Sperling (2007) discorre sobre a base de todo o processo biológico ser o contato efetivo entre organismos e a matéria orgânica contida no esgoto, de maneira que este possa ser utilizado como alimento para os microrganismos, convertendo-o em dióxido de carbono, água e material celular. Os sistemas tradicionais de tratamentos biológicos envolvem um sistema complexo de operação, geram grandes volumes de lodo ativado e requerem altos gastos energéticos (RENUKA *et al.*, 2013). Sendo assim, são essenciais métodos ecológicos e financeiramente viáveis para o tratamento biológico, que sejam aplicáveis em escala real a fim de atender a demanda das cidades.

Uma alternativa biotecnológica e sustentável para o tratamento terciário é o uso de microalgas, particularmente atrativas em decorrência da capacidade fotossintética, convertendo energia solar em biomassa e incorporando N e P presentes no esgoto sanitário (DE LA NOÛE; DE PAUW, 1988; DE WILT *et al.*, 2016). Ademais, as microalgas podem simultaneamente reduzir a pegada de CO₂ e gerar esgoto tratado com alta concentração de oxigênio dissolvido para os corpos receptores (MENNAA; ARBIB; PERALES, 2015).

As microalgas assimilam o N e P contidos no esgoto sanitário para reações em seu metabolismo celular. Um exemplo de como ocorre os processos

nas microalgas encontra-se ilustrado na Figura 1. Segundo Hoh, Watson e Kan (2016), N está envolvido na produção de aminoácidos, proteínas e clorofila, enquanto P é utilizado para a transferência de energia, fotossíntese e formação de ácidos nucleicos.

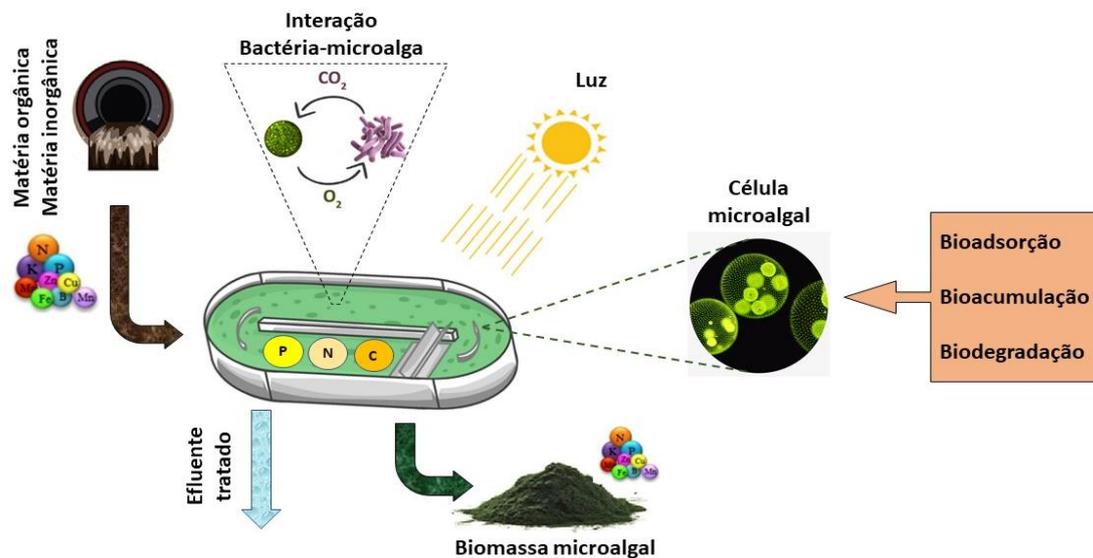


Figura 1. Processos de tratamento de esgoto sanitário com o uso de microalgas.

A principal preocupação ao cultivar microalgas é selecionar uma espécie que se adapte bem às condições selecionadas em diferentes ambientes (HODGSKISS *et al.*, 2016). Apesar de diversos estudos aplicarem cepas com espécimes selecionados e introduzidos ao efluente, todo sistema de microalgas que trata águas residuais não esterilizadas irá conter um consórcio misto de algas, bactérias e outros microrganismos nativos do esgoto a ser tratado (KRUSOK *et al.*, 2016).

As interações simbióticas entre o consórcio microalgas-bactérias podem ocorrer de forma direta ou indireta, impulsionando o crescimento e a eficiência na remoção de nutrientes; ademais, estes microrganismos apresentam como vantagem a aclimação natural ao efluente, incluindo o deslocamento bem-sucedido de potenciais competidores. Assim, utilizar o consórcio de microalgas nativas do esgoto sanitário é uma abordagem que tem sido empregada com sucesso em diversos estudos (ALCÁNTARA *et al.* 2015; ZHOU *et al.*, 2017; THOMAS *et al.*, 2019).

2.1. Tipos de reatores (aberto, fechado, tubular)

O cultivo de microalgas em reatores é uma estratégia emergente e potencialmente sustentável para remover contaminantes do efluente e simultaneamente produzir biomassa microalgal rica em nutrientes (LUO; LE CLECH; HEBERSON, 2017).

Segundo Xu *et al.* (2009), os tipos de reatores que podem ser utilizados para o tratamento de águas residuais podem ser divididos em sistemas abertos, que incluem os naturais (lagos, lagoas e lagoas) e os artificiais (lagoas *raceway*, tanques, lagoas circulares), além dos sistemas fechados, como os fotobiorreatores (*flat panel*, tubular, *bubble-column*); a Figura 2 mostra um esquema dos principais modelos de reatores utilizados. Todos possuem vantagens e desvantagens (Tabela 1) em suas utilizações, que cabe a equipe responsável pela implementação a avaliação dos custos/benefícios e vantagens/desvantagens para cada região a serem aplicados.

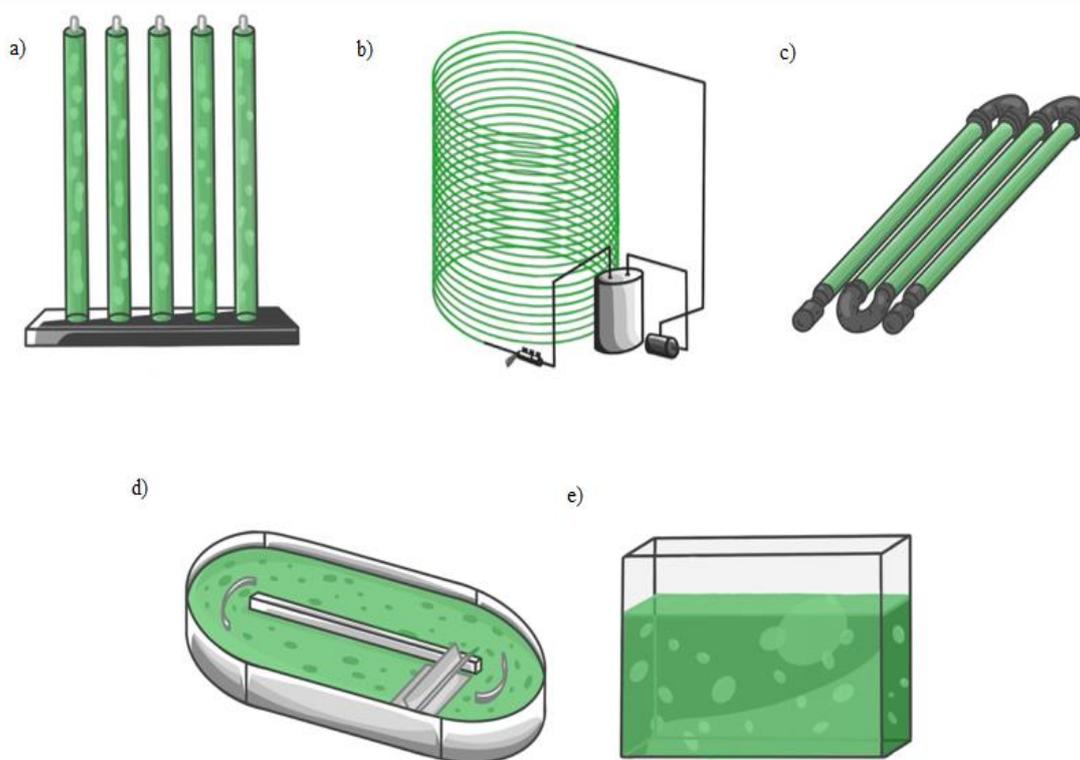


Figura 2. FBR tubular vertical (A); FBR helicoidal (B); FBR tubular horizontal (C); Lagoa *raceway* (D); PBR *flat panel* (E).

Estudos produzidos ao longo dos anos testaram o desempenho prático do crescimento microalgal para o tratamento de águas residuárias fora do ambiente laboratorial, assim buscando entender como o *design* dos reatores e os parâmetros físico-químicos reais e não controlados (como luminosidade, temperatura, valor de pH, concentração de nutrientes, dentre outros) podem afetar a produtividade desejada.

Os reatores de sistemas abertos são as formas mais comumente aplicadas no cultivo de microalgas em larga escala (UGWU *et al.*, 2008) devido principalmente ao baixo custo, construção simples e método operacional conveniente; sendo utilizados em países como Israel, Estados Unidos e China (XU *et al.*, 2009; TING *et al.*, 2017).

Quando se trata de sistemas abertos, estes podem ser subdivididos em tanques agitados e não agitados. As lagoas não agitadas são mais econômicas e fáceis de gerenciar, entretanto são propensas à predação das microalgas pelo zooplâncton, comunidades mistas e crescimento potencial de patógenos; assim estes fatores bióticos podem afetar o crescimento algal e, conseqüentemente, a produção de biomassa (CHAUMONT, 1993).

Paralelamente, as vantagens dos sistemas agitados são o fornecimento de aeração, melhor distribuição de luz e nutrientes, propocionando maior crescimento microalgal (MOLAZADEH *et al.*, 2019). Ademais, por não necessitarem de material transparente na construção de tanques abertos, como ocorre nos sistemas fechados, há a vantagem de uma variedade de opções de materiais a serem utilizados (FRANCO *et al.*, 2013).

Os sistemas abertos agitados do tipo lagoa *raceway* (Figura 2d) possuem a vantagem de comportar maior quantidade de líquido, operando com cerca de quatro vezes mais esgoto em comparação a um fotobiorreator fechado da mesma escala de produção (PAWAR, 2016).

Mantovani *et al.* (2019) realizaram um estudo em lagoa *raceway*, com capacidade de 1200 L, para demonstrar a viabilidade em se usar um consórcio de microalgas-bactérias para o pós-tratamento de esgoto urbano. Como resultado, foi obtido a eficiência de remoção de nutrientes de 96% para nitrogênio e de 71% para o fósforo. Ademais, foi reafirmado que os custos de operação de uma lagoa *raceway* é menor do que outros sistemas, como os fechados.

Entretanto, segundo Benavides *et al.* (2013) o cultivo de microalgas em

sistemas abertos comporta apenas algumas espécies de microalgas, visto que o controle das condições físico-químicas é limitado. Além disso, a produtividade de biomassa é inferior ao de sistemas fechados, dada a sua suscetibilidade de contaminação externa, sendo mais dependentes das condições climáticas do ambiente (PIRES *et al.*, 2017).

Em contrapartida, os reatores fechados possuem características de construção, como a aplicação de materiais transparentes e agitação da biomassa, que permitem um controle maior de fatores abióticos e superfície de contato com a luz solar, contribuindo com a efetividade do sistema. Assim, um dos parâmetros importantes que afetam o *design* de um fotobiorreator é a necessidade de manter a penetração de luz adequada aos processos biológicos que ocorrem dentro dele (PLACZEK *et al.*, 2017).

Segundo Carvalho *et al.* (2006), dentro dessa categoria de sistemas fechados existem diversos modelos projetados para otimizar a captação de luz, sendo eles tubulares ou *flat panel*. Os fotobiorreatores tubulares podem ser construídos em basicamente três formas: colunas de *airlift* ou *bubble column* (Figura 2a), reator tubular horizontal (Figura 2c) e reator tubular helicoidal (Figura 2b).

Os fotobiorreatores do tipo *airlift* ou *bubble column* são compactos e fáceis de operar. As bolhas de ar provenientes da parte inferior do reator promovem a mistura do líquido, suprimento de CO₂ e boa remoção de O₂ durante o processo de fotossíntese das microalgas (CARVALHO *et al.*, 2006).

Um estudo produzido por Monkonsit *et al.* (2012) buscou comparar ambos os reatores, os autores obtiveram como resultado que o fotobiorreator tipo *airlift* teve concentração máxima de células cerca de 2,5 vezes maior do que o valor obtido no *bubble column*, operando nas mesmas condições de aeração e intensidade luminosa. Isso se deu por conta do fluxo circulatório no *airlift*, que promoveu melhor eficiência de utilização da luz.

Em relação aos custos operacionais, Ación *et al.* (2012) reportaram que para produção em fotobiorreatores tubulares horizontais seriam necessários 12.6 €/kg de biomassa produzida, caso o método fosse adotado em larga escala. Ademais, os autores relatam que os principais custos associados a produção são energia e CO₂, seguidos de mão de obra e gestão.

Apesar de ambos utilizem de um bom método demonstrado pelo elevado

crescimento algal, também apresentam desvantagens como a dificuldade em ampliar a área de exposição à luz, visto que só seria possível como o aumento do diâmetro do reator, impedindo que muitas microalgas presentes no centro não obtenham contato com a radiação solar de maneira eficiente (PLACZEK *et al.*, 2017).

Os reatores tubulares horizontais (Figura 2c) e helicoidais (Figura 2b) diferem apenas na disposição em que os tubos são posicionados, sendo o horizontal de maneira paralela ao chão ou dispostos verticalmente e ocupando maior área, enquanto o helicoidal é mantido enrolado em uma estrutura circular aberta, a fim de ocupar maior espaço no sentido vertical (CARVALHO *et al.*, 2006).

Apesar de apresentarem uma grande área de exposição solar e boa produtividade de biomassa, os fotobiorreatores tubulares possuem como risco o acúmulo de biofilme na parede dos tubos, dada a sua dificuldade de limpeza, o que impede a penetração da luz (PLACZEK *et al.*, 2017). Ainda, por conta da falta de controle de temperatura do reator, o uso de grandes quantidades de água e energia são necessárias para reduzir a temperatura dos tubos, a fim de manter a temperatura ideal do líquido para a atividade microalgal (CARVALHO *et al.*, 2006; ACIÉN *et al.*, 2012).

Por fim, os reatores tipo *flat panel* (Figura 2e) possuem formato paralelepipedal, cuja largura é estreita o suficiente para que a luz penetre com facilidade o líquido. São vantajosos por terem uma grande superfície de contato, aumentando a eficiência de fotossíntese, e por serem adequados ao uso para cultivo ao ar livre, permitido sua inclinação para obter melhor ângulo em relação ao sol, e para a limpeza ser mais prática e fácil (TING *et al.*, 2017; PLACZEK *et al.*, 2017; XU, *et al.* 2019). Mas podem surgir dificuldades em relação à manutenção de temperatura e a possibilidade de estresse hidrodinâmico causado pela aeração (ZITTELLI *et al.*, 2013; TING *et al.*, 2017).

Banerjee e Ramaswamy (2019) buscaram aplicar um modelo de análise de custos associados à produção de biomassa com o uso de *flat panel*, considerando custos como os de construção, eletricidade, manutenção e administração necessários para a uma planta que ocupa o espaço de 1 hectare. Os autores obtiveram como resultados que o valor associado à produção de biomassa algal variaria entre U\$ 3 e 10/kg, o que foi considerado compatível com

outros estudos realizados com o mesmo propósito (NORSKER *et al.*, 2011; TREDICI *et al.*, 2016).

Tabela 1. Vantagens e desvantagens associadas aos tipos de reatores.

Reatores	Sistema aberto	Sistema fechado
Vantagens	Método mais utilizado comercialmente; custos associados à construção são menores; facilidade de operação e durabilidade maior em comparação aos sistemas fechados.	Ambiente com fatores mais controlados em comparação aos sistemas abertos; menos propensos a contaminação externa e a evaporação direta; permitem alcançar maior produtividade e crescimento celular, devido a maior relação superfície iluminada por volume S/V (WANG; LAN; HORSMAN, 2012).
Desvantagens	São mais suscetíveis a contaminação externa; sofrem com oscilações climáticas nas condições de cultivo, que acarretam menor produtividade de biomassa e remoção de nutrientes em comparação às taxas atingidas por sistemas fechados (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017); apresentam altas taxas de evaporação direta.	Os custos relacionados à construção são mais elevados. E ainda carecem de avaliação em escala industrial para aplicação real (DARZINS; PIENKOS; EDYE, 2010).

3. O tratamento: remoção/recuperação de nutrientes

Frente à necessidade de remoção das quantidades excedentes dos nutrientes antes da disposição nos corpos d'água, as microalgas desempenham papel importante, uma vez que são capazes de assimilá-los. O esgoto sanitário anaeróbico, embora variável, tende a estar dentro da faixa intermediária de proporções ótimas de N:P e também abaixo do limiar de toxicidade de NH₃ (KUBE *et al.*, 2018), transformando-o em um ótimo meio de cultura para as microalgas. Durante a sua fase de crescimento exponencial, as microalgas

apresentam altas taxas de remoção destes compostos, podendo armazená-los para serem utilizados futuramente na síntese celular (RAWAT *et al.*, 2013).

O principal nutriente necessário para o crescimento das microalgas é o carbono inorgânico, uma vez que é o precursor das reações fotossintéticas (Figura 2). Para cultivar microalgas, o carbono é a fonte de energia para muitos eventos celulares, como a produção e reprodução de metabólitos e faz parte da estrutura física da célula (HOH; WATSON; KAN, 2016). O carbono dissolvido existe em diferentes formas: CO_2 , HCO_3^- ou carbonato (CO_3^{2-}). Ainda segundo os autores, as microalgas podem usar o CO_2 com uma frequência maior, o HCO_3^- frequentemente e CO_3^{2-} será dificilmente utilizado.

O teor de carbono varia significativamente entre as espécies e condições de cultura e pode variar entre 17,5 e 65% em peso seco. No entanto, a maioria das espécies contém cerca de 50% de carbono (GROBBELAAR, 2007).

Embora as microalgas sejam principalmente autotróficas, algumas microalgas são heterotróficas, usando apenas carbono orgânico (por exemplo, acetato, glicose, glicerol e etanol) como fonte de carbono, enquanto outras são mixotróficas, usando facultativamente uma fonte de carbono orgânico além do CO_2 (LEITE; ABDELAZIZ; HALLENBECK, 2013). Nesse regime de crescimento, tanto mecanismos respiratórios como fotossintéticos podem ocorrer (LEE, 2004).

Além do carbono, o crescimento de microalgas é dependente de outros macros e micronutrientes, como alguns metais pesados conhecidos como oligoelementos, bem como N e P, necessários para a síntese de ácidos nucleicos e proteínas (GONÇALVES *et al.*, 2017) (Figura 1). Apenas formas inorgânicas de N e P são consideradas diretamente disponíveis para as microalgas nos esgotos. Segundo levantamento de dados realizado por Monfet e Unc (2017), pode-se especular que cerca de 86% do N e 69% do P estão nas formas disponíveis.

A remoção de N pelas microalgas se dá em função da assimilação celular e volatilização de NH_3 (GARCIA *et al.*, 2000), sendo que esta volatilização ocorre em função do aumento de valor de pH e temperatura. As procarióticas (cianobactérias) são capazes de fixar N_2 -N e convertê-lo em NH_3 , que por sua vez pode ser incorporado em aminoácidos e proteínas ou excretado no ambiente (CAI *et al.*, 2013). Já as microalgas eucarióticas são capazes de assimilar NH_4^+ , NO_3^- e NO_2^- .

Estas fontes de N inorgânico são incorporadas nas células através de transporte ativo na membrana plasmática. O NO_3^- (forma do N mais oxidada) é termodinamicamente mais estável que o NH_4^+ e, portanto, mais comum se ser encontrado em ambientes aquáticos (GROBBELAAR, 2007). Entretanto, sua assimilação requer a redução prévia do NH_4^+ em um processo de duas etapas de catalisação: pelas enzimas nitrato redutase e nitrito redutase (CROFCHECK *et al.*, 2012).

O NH_4^+ é ativamente incorporado em células de microalgas e diretamente convertido em aminoácidos. Acredita-se que o NH_4^+ seja a forma de N preferida pelas microalgas, uma vez que assimilação de NO_3^- e NO_2^- requer mais energia (MONFET; UNC, 2017). Quando o NH_4^+ e NO_3^- estão presentes no esgoto sanitário, há um consumo mínimo de NO_3^- até que a maior parte do NH_4^+ tenha sido removida (SILVA *et al.*, 2015).

O P é responsável pela transferência de energia e a síntese de ácidos nucleicos. No que diz respeito à sua assimilação, este nutriente é requerido sob a forma de fosfatos solúveis e deve ser fornecido em grandes quantidades, uma vez que nem todos os compostos de P estão biodisponíveis para microalgas (KUMAR *et al.*, 2010).

O P entra nas células de microalgas através do transporte ativo na membrana plasmática nas formas de ácido fosfórico (H_2PO_4^-) e fosfato de hidrogênio (HPO_4^{2-}). A incorporação de PO_4^{3-} em compostos orgânicos é realizada através dos seguintes processos: (1) fosforilação ao nível do substrato, (2) fosforilação oxidativa, e (3) fotofosforilação (KUBE *et al.*, 2018). Nesses processos, a adenosina trifosfato (ATP) é produzido a partir da adenosina difosfato (ADP) e de um insumo energético, que pode ser obtido da oxidação dos substratos respiratórios ou do sistema de transporte de elétrons das mitocôndrias (dois primeiros processos), da luz e transformação de energia (terceiro processo).

As microalgas também podem consumir o P extra através do “consumo de luxo”, armazená-lo na forma de polifosfato e utilizá-lo em condições de baixa disponibilidade externa de P (YIN-HU *et al.*, 2012).

O crescimento de microalgas e a capacidade de remover nutrientes podem ser influenciados por fatores bióticos e abióticos. Fatores bióticos incluem a presença de patógenos, como bactérias, fungos e vírus, e a competição por

outras microalgas (GONÇALVES *et al.*, 2017). Já os fatores abióticos incluem valor de pH, temperatura, luminosidade, oxigênio dissolvido, tempo de detenção hidráulica, transferência de gás e mistura (RAMANNA *et al.*, 2018), fotoperíodo e compostos tóxicos no meio de cultura (RAHEEM *et al.*, 2018).

Como exemplo da influência dos fatores abióticos, o elevado valor pH e as elevadas concentrações de oxigênio dissolvido foram parâmetros observados capazes de potencializar a precipitação de fosfato (uma vez que o P não existe na forma gasosa) no meio (NURDOGAN; OSWALD, 1995; CAI; PARK; LI, 2013).

Os fatores abióticos devem ser sempre monitorados, uma vez que esses parâmetros controlam a disponibilidade de CO₂, taxas de cisalhamento, exposição à luz (YEN *et al.* 2013) e a composição química das microalgas nos sistemas de tratamento de esgoto sanitário (ELAWWAD *et al.*, 2017).

Para melhorar os processos de fitorremediação de esgoto sanitário é importante entender os mecanismos envolvidos na remoção de nutrientes. No Quadro 1 está apresentado um resumo dos mecanismos envolvidos na remoção de carbono (C), N e P por microalgas.

Quadro 1. Mecanismos envolvidos na remoção de nutrientes por microalgas.

Nutrientes	Mecanismos	Incorporação celular
Carbono		
CO ₂	Integração no ciclo de Calvin	Difusão (5,0 < valor de pH < 7,0) ou transporte ativo (valor de pH > 7,0)
C Orgânico	Integração no metabolismo da respiração	Difusão ou transporte ativo (dependendo do tamanho das moléculas)
Nitrogênio		
Nitrogênio molecular atmosférico (N ₂)	Fixação por microalgas procarióticas (cianobactérias) em NH ₃ , seguida de conversão em aminoácidos	n.a.
NO ₃ ⁻ e NO ₂ ⁻	Redução em NH ₄ ⁺ , seguida de conversão em aminoácidos	Transporte Ativo
NH ₄ ⁺	Conversão direta em aminoácidos	Transporte Ativo
	Decapagem devido à volatilização (altos valores de pH e temperaturas)	n.a.
Fósforo		
PO ₄ ³⁻	Fosforilação	Transporte Ativo
	Precipitação química (altos valores de pH e concentrações de oxigênio dissolvido (OD))	n.a.
n.a. - não aplicável.		

Fonte: Adaptado de Gonçalves *et al.* (2017).

3.1. Remoção de patógenos

Em efluentes sanitários são encontrados diversas espécies e comunidades de microrganismos como bactérias (patogênicas ou não), vírus, protozoários e helmintos, sendo descritos como fatores bióticos que afetam o crescimento de microalgas ou alteram os ecossistemas de águas residuais (RANI *et al.*, 2021).

Para atender aos padrões previstos de descarga de efluentes em corpos de água dispostos pela Resolução CONAMA nº430/2011, é importante que o processo de desinfecção de organismos patogênicos seja realizado com eficácia, já que está relacionado com a saúde pública (SHARAFI *et al.*, 2015). Os processos físico-químicos que compõem o tratamento terciário normalmente empregados na desinfecção de patógenos possuem determinadas desqualificações, como o método convencional de tratamento através da cloração, que resulta em aumento nos índices de cloro residual dissolvidos nas águas, podendo se incorporar na cadeia alimentar e causar riscos, por conta de sua ação cancerígena (MARCON, 2005).

Os mecanismos utilizados para quantificar e confirmar a presença de microrganismos patogênicos em efluentes são variados, incluindo análises moleculares (PCR), métodos de imunofluorescência e, o mais comumente utilizado em diversos estudos, a partir das unidades formadoras de colônia, com o método de *pour plate* ou de membrana filtrante, que possui melhor custo benefício em relação aos outros e exige menos conhecimento técnico ou avançado para aplicação (APHA, 2005; RANI *et al.*, 2021).

Segundo Boutilier *et al.* (2009), os coliformes totais, incluindo a bactéria *Escherichia coli*, são um importante indicador de presença de organismos patogênicos e por isso, podem e têm sido utilizados como um parâmetro de avaliação da qualidade dos efluentes, incluindo os tratados por microalgas em sistemas de cultivo.

Entretanto, estudos recentes descrevem algumas limitações em se utilizar bactérias do grupo coliformes totais como bioindicadores de qualidade das águas, já que outros microrganismos presentes em efluentes possuem reações diferentes às mudanças de pH, temperatura e oxigênio dissolvido no meio. Dias *et al.* (2017) citaram a importância de incorporar outros microrganismos patogênicos às análises, a fim de melhorar a avaliação da eficiência de remoção

de patógenos durante o tratamento terciário de esgoto. Liu *et al.* (2020), utilizando de *E. coli*, coliformes totais, *Enterococcus* spp. e *Clostridium perfringens* como indicadores em lagoas de estabilização, obtiveram como resultado as taxas de remoção de 0.19, 0.12, 0.07 e -0,01 (log CFU/100 mL), respectivamente, em pH 10.5, considerado um ótimo valor para remoção dos dois primeiros indicadores. Mas, ainda que houvesse a diminuição de *Enterococcus*, não ocorre com a mesma efetividade observada em *E. coli*.

Dentre os processos de tratamento terciário de esgoto sanitário existentes, o uso de microalgas possui a vantagem de atuar na remoção desses microrganismos sem acarretar nos problemas encontrados pelo uso de desinfetantes. Segundo Ansa *et al.* (2011), o aumento da concentração de clorofila-a mostrou ser diretamente proporcional ao decaimento de *E. coli*, o que indica que as presenças de organismos fotossintetizantes, como as microalgas e cianobactérias, atuam no processo de desinfecção.

Durante o crescimento algal nos sistemas de tratamento que as utilizam, em reatores abertos e fechados (como exemplo lagoas *raceway* e *flat panel*, respectivamente) descritos por Pires *et al.* (2017), ocorrem processos que contribuem para a remoção de patógenos. Dentre tais processos pode-se citar a competição pelos nutrientes disponíveis no meio entre as microalgas e os organismos diversos que estão presentes e a elevação do valor de pH, já que muitos microrganismos não são resistentes a esse nível de alcalinidade, danificando seu DNA. Bellucci *et al.* (2020) reportou que o crescimento autotrófico algal ocasionou o aumento de pH para 11,6, sendo os maiores níveis de decaimento de *E. coli* ocorrendo quando o meio se tornou altamente alcalino.

O aumento de oxigênio dissolvido é considerado um parâmetro que apresenta correlação com a remoção de patógeno por microalgas, uma vez que a atividade algal aumenta a disponibilidade de oxigênio, sendo responsável por elevar os níveis de foto-oxidação. Essa correlação é observável já que o evento de foto-oxidação eleva a quantidade de espécies reativas de oxigênio, danificando os microrganismos com os quais entram em contato, a partir da absorção de luz, portanto, os níveis de oxigênio dissolvidos atuam em conjunto com a luminosidade do ambiente para a remoção de patógenos (LIU *et al.*, 2016).

A luminosidade afeta também a concentração de microrganismos através da sua ação direta com os mesmos, o que acontece com maior eficiência em

reatores fechados tubulares, já que possuem maior superfície de contato, sendo mais expostos à radiação solar (CUELLAR-BERMUDEZ *et al.*, 2015). A porção UV-B da radiação solar possui maior fator bactericida, causando danos fotobiológicos às organelas, atingindo primeiramente a membrana plasmática, podendo chegar a afetar o DNA (SINTON *et al.*, 2002).

Além disso, diversos estudos discorrem sobre compostos produzidos por microalgas que possuem efeitos antimicrobianos, sendo geralmente ácidos graxos insaturados, como a clorelina, produzida por microalgas do gênero *Chlorella*, que possui efeito inibidor do crescimento de bactérias (PRATT *et al.*, 1944). Hussein *et al.* (2018) relataram que bactérias patogênicas enterobactérias, *Proteus* e *Escherichia Coli* são sensíveis à altas concentrações (100 mg/ml) de compostos bioativos brutos extraídos de *Chlorella*; a avaliação de extratos brutos de *Chlamydomonas* sp. também demonstraram atividade antibacteriana durante o crescimento celular, majoritariamente durante a fase de crescimento exponencial (SENHORINHO, 2018).

Juntamente com os processos atribuídos ao crescimento algal e a luminosidade, a temperatura elevada do ambiente também se mostrou um fator relevante e altamente correlacionado à concentração de patógenos. O estudo produzido por Liu *et al.* (2020) obteve como conclusão que a remoção de patógenos exhibe padrões sazonais, tendo maior efetividade em maiores temperaturas. Mezrioui *et al.* (1995) reportaram que coliformes totais foram reduzidos em 98.95% em temperaturas quentes (acima de 22° C) e 94.91% em períodos mais frios (abaixo de 22° C).

3.2. Remoção de micropoluentes

Micropoluentes compreendem substâncias naturais e antropogênicas, incluindo produtos farmacêuticos, produtos de higiene pessoal, pesticidas e produtos químicos industriais. São usados em diversos campos, como pecuária, agricultura e na vida diária de seres humanos (HENA *et al.*, 2020).

Por traz dos aumentos da expectativa de vida populacional e melhoria na qualidade de vida, está, dentre outros aspectos, grandes esforços da indústria farmacêutica. Entretanto, o avanço em sistemas de tratamento capazes de remover este tipo de micropoluentes das águas não acompanhou o mesmo progresso.

Atualmente, a crescente atenção científica aos micropoluentes se deve à onipresença desses em todos os compartimentos do ambiente, aos riscos ecológicos que apresentam, como resistência a antibióticos em bactérias e desregulação endócrina em vários organismos aquáticos, e aos efeitos ainda desconhecidos na vida humana a longo prazo (RIVERA-UTRILLA *et al.*, 2013; HENA *et al.*, 2020).

Foi o desenvolvimento de novas técnicas analíticas que possibilitou a detecção e a quantificação destes compostos, mesmo presentes em concentrações extremamente baixas em matrizes complexas de fases aquosa e sólida. As técnicas de detecção e quantificação mais usadas são: cromatografia líquida (LC) e cromatografia gasosa (GC) acoplada à espectrometria de massa (MS) (DÍAZ-CRUZ; BARCELÓ, 2006).

Os micropoluentes estarem presentes continuamente no meio ambiente deve-se ao seu uso excessivo, má remoção em estações de tratamento de esgotos (ETEs) e suas estruturas estáveis, que maximizam sua atividade biológica (JACKSON *et al.*, 2007; RIVERA-UTRILLA *et al.*, 2013) e aumenta ainda mais sua resistência à degradação (DAUGHTON; TERNES, 1999).

O desafio para o tratamento desses micropoluentes é conhecer tecnologias de sucesso que não sejam dispendiosas como são o caso dos processos oxidativos avançados, adsorção, separação por membranas, ozonização que além de dispendiosas, podem produzir compostos mais tóxicos dos que os originalmente existentes no efluente (XIONG *et al.*, 2018; SHAH *et al.*, 2020), mas sim aplicáveis e seguras.

Os reatores operantes com consórcio de microalgas já estão sendo avaliados para a remoção de micropoluentes do esgoto doméstico por alguns pesquisadores (MATAMOROS *et al.*, 2016; 2015; DE WILT *et al.*, 2016; VASSALLE *et al.*, 2020).

Além destes, Shi *et al.* (2010) mostraram que os estrogênios naturais e sintéticos podem ser efetivamente removidos em sistemas de tratamento de águas residuárias utilizando-se algas. A microalga *Selenastrum capricornutum* mostrou 46% e 40% de adsorção da remoção máxima dos hormônios E2 e EE2, respectivamente, enquanto *Chlamydomonas reinhardtii* removeu 86% e 71% de E2 e EE2, respectivamente, por adsorção de lodo anaeróbico em 7 dias (HOM-DIAZ *et al.*, 2015).

Estudos mostraram que a espécie de microalga *C. sorokiniana* pode remover o ácido salicílico e o paracetamol de um meio artificial, bem como vários outros micropoluentes de água negra (proveniente de vasos sanitários) digerida anaerobiamente (ESCAPA *et al.*, 2015; DE WILT *et al.*, 2016). Sabe-se, portanto, que algumas microalgas em específico (as mais generalistas e frequentes) são mais eficientes na remoção de determinados compostos, mas ainda precisa ser mais explorado a eficiência dos consórcios nativos, para avaliação da aplicabilidade dos sistemas em cada região específica.

Entretanto, há o problema do acúmulo destes micropoluentes na biomassa algal, o que restringe o reuso da mesma (GOJKOVIC *et al.*, 2019). Para tal, se o intuito é utilizar a biomassa algal como biofertilizantes, se faz necessárias pesquisas que determinem a concentração de micropoluentes na biomassa, e avaliem se a aplicação da mesma na agricultura atinge as plantações e o solo ou não.

3.3. Remoção de metais

Existem várias técnicas convencionais para remoção de metais pesados de efluentes, que incluem tecnologias eletrolíticas, troca iônica, precipitação, extração química, hidrólise, microencapsulação de polímero e lixiviação (JAIS *et al.* 2017). No entanto, a maioria desses métodos são ineficazes, pois possuem custo elevado em projetos de grande escala e requerem controle e monitoramento constantes (CRINI *et al.*, 2019). A aplicação de produtos químicos no tratamento prevê ainda a geração de subprodutos potencialmente perigosos ao ambiente (BILAL *et al.*, 2013).

Quando os metais pesados são lançados em corpos d'água acima do limite tóxico pode ser letais para a biota aquática (MARYJOSEPH; KETHEESAN, 2020), podem persistir no ambiente por décadas (LEONG; CHANG, 2020) e podem ser prejudiciais para a saúde humana (JAISHANKAR *et al.*, 2014).

Já é sabido por inúmeros estudos prévios que os metais pesados são cancerígenos (WU *et al.*, 2016) e neurotóxicos (MISHRA *et al.*, 2019). A toxicidade destes depende da dosagem de exposição, duração e sistema imunológico dos organismos (BHAT *et al.*, 2020). Além disso, a bioconcentração de metais pesados pode levar à interrupção das atividades metabólicas em plantas e animais (ALI *et al.*, 2019).

As microalgas podem não apenas remover nutrientes e outros poluentes orgânicos e inorgânicos presentes nos efluentes, mas também podem absorver e degradar moléculas persistentes, como os metais pesados (SCHWARZENBACH, 2006). Alguns dos metais que podem ser encontrados em efluentes são zinco (Zn), níquel (Ni), arsênio (As), mercúrio (Hg), cobre (Cu), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cromo (Cr) e manganês (Mn) (HUSSAIN *et al.*, 2019).

Os metais pesados possuem uma alta afinidade de ligação com a parede celular das microalgas, dando a elas a capacidade de removê-los do ambiente contaminado (HWANG *et al.*, 2016), tornando a fitorremediação em efluentes uma abordagem viável.

Os metais pesados conhecidos como oligoelementos, são desejáveis pelas microalgas como micronutrientes e essenciais para o seu crescimento, como Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Mo^{2+} , Fe^{2+} e Zn^{2+} . Em contraste, outros metais pesados, incluindo Sn^{2+} , Au^{3+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{2+} , Ti^{3+} e Hg^{2+} , não têm função biológica essencial e são tóxicos para microalgas (JAIS *et al.* 2017).

O processo de fitorremediação reduz a contaminação de metais pesados por meio de bioissorção e bioacumulação (RICHARDS *et al.*, 2019). Vale ressaltar que na literatura encontra-se o termo sorção, que abrange tanto a adsorção (processo de ligação à superfície) quanto a absorção (permeação e acumulação na biomassa) (NAJA *et al.*, 2010).

A bioissorção é caracterizada como um processo passivo e realizada por meio de biomassa morta. Já a bioacumulação se caracteriza como um processo ativo e é realizada pelas células de microalgas vivas (PRIYADARSHANI *et al.*, 2011). No processo passivo, a estrutura celular aprisiona íons de metais pesados em locais de ligação (vias não metabólicas) (KUMAR *et al.*, 2015). A superfície da célula microalgal contém grupos funcionais como hidroxila (-OH), carboxila (-COOH), amino (-NH₂) e sulfidril (-SH) que possuem a capacidade de se ligar aos metais pesados (RICHARDS *et al.*, 2019). A presença destes tipos de grupos funcionais na parede celular atinge carga sempre negativa, facilitando sua ligação com os metais pesados (LEONG; CHANG, 2020).

Como o processo passivo ocorre na parede celular da microalga, que é sua camada externa, há a proteção da célula contra a toxicidade do metal (DAO; BEARDALL, 2016). Antes de os metais pesados penetrarem no citoplasma, eles encontram a parede celular, que oferece locais de ligação potenciais aos íons

metálicos (DAS *et al.*, 2008). Vários processos (adsorção física, troca iônica, complexação, precipitação) participam da ligação do metal à superfície da célula e podem ocorrer simultaneamente e em diferentes graus (CHENG *et al.*, 2019).

Durante o processo de bioacumulação (ativo), os metais pesados são absorvidos pela célula usando o ciclo metabólico celular (PAPIRIO *et al.*, 2017), sendo transportados através da membrana celular para o citoplasma (CHALIVENDRA, 2014). A bioacumulação pode ser considerada um procedimento secundário envolvido no processo de ligação de metal (KADUKOVA; VIRCIKOVA, 2005) e muitas vezes é utilizado o termo bioissorção ativa para se referir ao processo.

Alguns autores mencionam que a eficiência das células de algas vivas durante o tratamento de efluentes é maior do que a da biomassa morta, pois elas podem remover e reter uma quantidade maior de metais usando mecanismos de bioissorção e bioacumulação por um período mais longo (HWANG *et al.*, 2016). Entretanto, Oliveira *et al.* (2011) explicam que o uso de organismos mortos reduz a necessidade de fornecimento de nutrientes e os efeitos tóxicos que os poluentes podem causar aos organismos.

Entre os fatores que são pesquisados na remoção dos metais pesados de efluente pelas microalgas, podem ser destacados a temperatura e o valor de pH. Embora alguns pesquisadores tenham relatado que a elevação da temperatura também aumentou a bioissorção do metal, outros observaram uma ligação reduzida do metal (ZERAATKAR *et al.*, 2016; PAPIRIO *et al.*, 2017). Devido à bioissorção e ao envolvimento de enzimas na transferência de íons, o aumento da temperatura pode ter um impacto maior na capacidade de bioissorção de algas vivas em comparação com biomassa morta (GOHER *et al.* 2016).

O valor de pH parece desempenhar um dos papéis mais importantes na bioissorção uma vez que afeta vários fatores, como especiação de metal em solução aquosa, disponibilidade de grupos funcionais da superfície celular e competição entre íons metálicos que serão adsorvidos na parede celular (KANWAR *et al.*, 2017). Altas concentrações de íons H⁺ diminuem a bioissorção de metal, impedindo-os de se ligarem a ligantes na superfície celular (ZERAATKAR *et al.*, 2016). Além disso, o pH extremamente baixo pode ser prejudicial e destrutivo para a parede celular (NAJA *et al.*, 2009).

4. Aplicação do efluente final/biomassa

Após o tratamento terciário utilizando microalgas, o efluente líquido pode ser descartado adequadamente em corpos d'água seguindo as diretrizes estabelecidas pelo CONAMA n°357, de 17 de março de 2005, ao passo que a biomassa, produto da fotossíntese microalgal, pode ser aplicada para diversos fins biotecnológicos tanto na forma seca como úmida.

O processo de separação da biomassa envolve uma ou mais etapas sólido:líquido, como floculação, centrifugação e filtração, por exemplo (DERNER *et al.*, 2006). Os processos utilizados dependerão da aplicação final da biomassa e/ou extração de compostos de interesse.

Devido a biodiversidade de microalgas que a biomassa possui (representados pelos filos Chlorophyta, Streptophyta, Rhodophyta, Stramenopila e Cyanobacteria) e ampla distribuição por todos os nichos, observa-se nas espécies de microalgas grande versatilidade bioquímica e fisiológica (NORTON; MELKNIAN; ANDERSEN, 1996), a qual permite a transformação da biomassa em diversos bioprodutos. É estimado que a biomassa algal é capaz de suprir cerca de 25% das necessidades globais de energia, além de ser uma fonte valiosa de produtos que podem ser utilizados para fins químicos, farmacêuticos e aditivos alimentares (BRIENS; PISKORZ; BERRUTI, 2008).

Com relação a energia, os biocombustíveis podem ser gerados por processos primários, através da biomassa vegetal e animal não processada com posterior aplicação de aquecimento ou energia elétrica (ALAM *et al.*, 2012). A partir dos biocombustíveis primários é possível a produção de secundários, que são subdivididos em 1ª geração, 2ª geração e 3ª geração. A 3ª geração caracteriza-se pela aplicação de microalgas e cianobactérias.

As microalgas têm excelente potencial para aplicações sustentáveis e de longa duração, conhecidas como “combustível verde”, pois podem fornecer uma fonte de biocombustíveis de alto rendimento sem comprometer o abastecimento de alimentos, florestas tropicais ou terras aráveis (ISMAIL *et al.*, 2020; KUMAR; BHARADVAJA, 2020). Ademais, as microalgas têm potencial para produzir 100 vezes mais óleo por hectare em comparação às plantas terrestres (COLLOTTA *et al.*, 2015). A biomassa de espécies oleaginosas de microalgas, como *Chlorella* e *Nannochloropsis*, são empregadas com sucesso em diversos estudos (CAI *et al.*, 2013; AZARI *et al.*, 2020).

A adição da biomassa de algas para fins agrícolas melhora as propriedades químicas da superfície do solo, bem como a atividade biológica da microflora (SHARMA *et al.*, 2021). Devido a presença de macronutrientes (como N, P, carboidratos e proteínas) e micronutrientes (vitaminas e minerais) diversos estudos relatam a eficiência da biomassa algal como biofertilizante (PRASANNA *et al.*, 2015; WHUANG *et al.*, 2016; SIEBERS *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2021).

Além disso, durante a digestão anaeróbia as microalgas liberam gás metano (CH₄), que pode ser empregado para a produção de energia. Os autores Hao *et al.* (2019) discorrem que a recuperação de água, nutrientes e energia possibilita transformar ETEs, que emitem poluentes e dissipam energia, em estações que beneficiam o meio ambiente e se aproximam a um nível de impacto zero.

5. Conclusões finais

O uso de microalgas e cianobactérias nativas para o tratamento terciário de águas residuárias é uma alternativa às opções tradicionais de tratamento terciário para remoção e recuperação de nutrientes, água, energia, concomitantemente à remoção de patógenos e poluentes emergentes, como os micropoluentes, metais e patógenos. A biomassa algal gerada pelo tratamento pode ser aplicada como biofertilizante, combustíveis, energia, dentre outros.

O tipo de reator empregado no cultivo de microalgas dependerá do objetivo a ser atingido, pois os sistemas abertos e fechados possuem vantagens e desvantagens, cabendo ao projetista avaliar diante das necessidades e limitações do local. Ademais, para atingir eficiência de crescimento microalgal e remoção/recuperação de constituintes, faz-se necessário compreender a influência dos fatores bióticos e abióticos sobre o consórcio em ambiente externo.

Entretanto, por se tratar de uma tecnologia relativamente moderna, são necessárias pesquisas com o intuito aprimorar o conhecimento já existente, e otimizar o cultivo em larga escala.

6. Agradecimentos

Este projeto de pesquisa está sendo financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo número 2018/18367-1, pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) processo número 4279362018-7, e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) código 001.

7. Referências

ACIÉN, Francisco. G *et al.* Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 6, p. 1344–1353, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.02.005>.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO (ANA). **Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas**. Brasília Agência Nacional de Águas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, 2017.

ALAM, Muddassar.; NADEEM, Raziya; JILANI, Muhammad I. Pb (II) removal from wastewater using Pomegranate waste biomass. **IJCBS**, v. 1, p. 24–29, 2012.

ALCÁNTARA, Cynthia *et al.* Mixotrophic metabolism of *Chlorella sorokiniana* and algal-bacterial consortia under extended dark-light periods and nutrient starvation. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 99, n. 5, p. 2393-2404, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6125-5>.

ALI, Hazrat; KHAN, Ezzat; ILAHI, Ikram. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. **J. Chem**, p. 1-14, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6730305>.

ANSA, Ebenezer D.O. *et al.* The role of algae in the removal of *Escherichia coli* in a tropical eutrophic lake. **Ecological Engineering**, v. 37, p. 317-324, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2010.11.023>.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2005.

BANERJEE, Sudhanya; RASMAWAMY, Shri. Dynamic process model and economic analysis of microalgae cultivation in flat panel photobioreactors. **Algal**

- Research**, v. 39, p. 101445, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101445>.
- BARNARD, James L. Biological nutrient removal without the addition of chemicals. **Water Research**, v. 9, p. 485-490, 1975. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(75\)90072-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(75)90072-X).
- BATSTONE, Daminen J. *et al.* Platforms for energy and nutrient recovery from domestic wastewater: a review. **Chemosphere**, v. 140, p. 2–11, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.021>.
- BELLUCCI, Micol *et al.* Disinfection and nutrient removal in laboratory-scale photobioreactors for wastewater tertiary treatment. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 95, p. 959-966, 2020. <https://doi.org/10.1002/jctb.6010>.
- BENAVIDES, Ana M. Silva *et al.* Productivity and biochemical composition of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) cultures grown outdoors in tubular photobioreactors and open ponds. **Biomass and Bioenergy**, v. 54, p. 115-122, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.03.016>.
- BHAT, Rouf Ahmad *et al.* Impact of heavy metal contamination on quality environs. **Bioremediation and Biotechnology**, v. 3, p. 1-13, 2020. https://doi.org/10.1007/978-3-030-46075-4_1.
- BOUTILIER, Leah *et al.* Adsorption, sedimentation, and inactivation of *E. coli* within wastewater treatment wetlands, **Water Research**, v. 43, p. 4370-4380, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.06.039>.
- BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. Manual de saneamento. 3. ed. rev. Brasília: **FUNASA**, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_saneamento_3ed_rev_p1.pdf. Acesso em: 12 ago. 2021.
- BRASIL. **Resolução nº 430, de 13 de Maio de 2011**, do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Condições e padrões de lançamento de efluentes. Diário Oficial da União. Brasília, DF.
- BRIENS, C. Cedric; PISKORZ, Jan; BERRUTI, Franco. Biomass Valorization for Fuel and Chemicals Production: A Review. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v. 6, n. 1, 2008. <https://doi.org/10.2202/1542-6580.1674>.
- CAI, Ting; PARK, Stephen Y.; LI, Yebo. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. **Renewable and Sustainable**

- Energy Reviews**, v. 19, p. 360–369, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.11.030>.
- CARVALHO, Ana. P.; MEIRELES, Luís A.; MALCATA, F. Xavier. Microalgal Reactors: A Review of Enclosed System Designs and Performances. **Biotechnology Progress**, v. 22, n. 6, p. 1490–1506, 2006. <https://doi.org/10.1021/bp060065r>.
- CHAI, Wai Siong *et al.* Multifaceted roles of microalgae in the application of wastewater biotreatment: A review, **Environmental Pollution**, v. 269, p. 314–324, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116236>.
- CHALIVENDRA, Saikumar. **Bioremediation of Wastewater Using Microalgae** Doctoral dissertation, University of Dayton, 2014. Disponível em: http://rave.ohiolink.edu/etdc/view?acc_num=dayton1418994496. Acesso em: 04 ago. 2021.
- CHAUMONT, Daniel. Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, p. 593–604, 1993. <https://doi.org/10.1007/BF02184638>.
- CHENG, Sze Yin *et al.* New prospects for modified algae in heavy metal adsorption. **Trends Biotechnol.**, v. 37, p. 1255–1268, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.04.007>.
- COLLOTTA, Massimo *et al.* Environmental and economic performance analysis of three techniques for breaking microalgae cell wall in the biodiesel production process. **Abstracts of papers of the american chemical society**. v. 249. 1155 16TH ST, NW, WASHINGTON, DC 20036 USA: AMER CHEMICAL SOC, 2015.
- CRINI, Gregório *et al.* Conventional and non-conventional adsorbents for wastewater treatment. **Environ. Chem. Lett.**, v. 7, n. 1, p. 195–213, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0786-8f>.
- CROFCHECK, Czarena L. *et al.* Influence of media composition on the growth rate of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* utilized for CO₂ mitigation. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**. v. 4, 2012. <https://doi.org/10.13031/2013.41734>.
- CUELLAR-BERMUDEZ, Sara P. *et al.* Photosynthetic bioenergy utilizing CO₂: an approach on flue gases utilization for third generation biofuels, **Journal of Cleaner Production**, v. 98, p. 53–65, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.03.034>.

- DAO, Ly; BEARDALL, John. Effects of lead on growth, photosynthetic characteristics and production of reactive oxygen species of two freshwater green algae. **Chemosphere**, v. 147, p. 420–429, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.117>.
- DARZINS, AI; PIENKOS, Philip; EDYE, Le. Current status and potential for algal biofuels production. **BioIndustry Partners & NREL, Bioenergy**, Task 39, 2010.
- DAS, Nilanjana; VIMALA, R; KARTHIKA, P, Biosorption of heavy metals-an overview. **Indian J Biotechnol**, v. 7, n. 2, p. 159–169, 2008.
- DAUGHTON, Christian G.; TERNES, Thomas A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? **Environmental health perspectives**, v. 107, n. 6, p. 907-938, 1999. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107s6907>.
- DE LA NÖEU, Joel.; DE PAWN, Niels. The potencial of microalgal biotechnology. A review of production and uses of microalgae. **Biotechnol**, v. 6, p. 725-770, 1988. [http://dx.doi.org/10.1016/0734-9750\(88\)91921-0](http://dx.doi.org/10.1016/0734-9750(88)91921-0).
- DERNER, Roberto B. *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959–1967, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000600050>.
- DE WILT, Arnoud. *et al.* Micropollutant removal in an algal treatment system fed with source separated wastewater streams. **Journal of hazardous materials**, v. 304, p. 84-92, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.10.033>.
- DIAS, Daniel F. C.; PASSOS, Ricardo G.; VON SPERLING, Marcos. A review of bacterial indicator disinfection mechanisms in waste stabilisation ponds. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 16, p. 517-539, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9433-2>.
- DÍAZ-CRUZ, Silva M., BARCELÓ, Damià. Determination of antimicrobial residues and metabolites in the aquatic environment by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 4, p. 973-985, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0444-z>.
- DROOP, Michael R. The nutrient status of algal cells in continuous culture. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 54, n. 4, p. 825–855, 1974.
- ELAWWAD, Andelsalam; KARAM, Ahmed.; ZAHER, Khaled. Using an Algal Photo-Bioreactor as a Polishing Step for Secondary Treated Wastewater. **Polish**

Journal of Environmental Studies, v. 26, n. 4, p. 1493-1500, 2017. <https://doi.org/10.15244/pjoes/68426>.

ESCAPA, Carla. *et al.* Nutrients and pharmaceuticals removal from wastewater by culture and harvesting of *Chlorella sorokiniana*. *Bioresource technology*, n. 185, p. 276-284, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.004>.

FRANCO, André L. C. *et al.* Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. **Química Nova**, v. 36, p. 437–448, 2013. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422013000300015>.

GARCIA, Joan; MUJERIEGO, Rafael; HERNÁNDEZ MARINÉ, Mariona. High Rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, p. 331–339, 2000. <https://doi.org/10.1023/A:1008146421368>.

GOHER, Mohamed *et al.* Biosorption of some toxic metals from aqueous solution using non-living algal cells of *Chlorella vulgaris*. **Journal of Elementology**, v. 21 p. 703–713, 2016. <https://doi.org/10.5601/jelem.2015.20.4.1037>.

GOJKOVIC, Zian *et al.* Northern green algae have the capacity to remove active pharmaceutical ingredients. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 170, p. 644-656, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.032>.

GONÇALVES, Ana. L.; PIRES, José. C. M.; SIMÕES, Manuel. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. **Algal Research**, v. 24, p. 403-405, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>.

GROBBELAAR, Johan U. **Algal Nutrition – Mineral Nutrition**. In: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*, p. 95-115, 2007. <https://doi.org/10.1002/9780470995280.ch6>.

HAO, Xiaodi *et al.* Environmental impacts of resource recovery from wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 160, p. 268-277, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.068>.

HENA, Sufia; GUTIERREZ, Leonardo; CROUÉ, Jean-Philippe. Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) from wastewater using microalgae: A review. **Journal of Hazardous Materials**, 124041, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124041>.

HODGSKISS, Logan H *et al.* Cultivation of a native alga for biomass and biofuel accumulation in coal bed methane production water. **Algal Research**, v. 19, p. 63-68, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.07.014>.

- HOH, Donghee; WATSON, Stuart; KAN, Eunsung. Algal biofilm reactors for integrated wastewater treatment and biofuel production: A review, **Chemical Engineering Journal**, v. 287, p. 466–473, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.11.062>.
- HOM-DIAZ, A *et al.* Microalgae cultivation on wastewater digestate: β -estradiol and 17α -ethynylestradiol degradation and transformation products identification. **Journal of environmental management**, n. 155, p. 106-113, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.03.003>.
- HOWE, Kerry J. *et al.* **Princípios de Tratamento de Água**. Editora: Cengage Learning Brasil, 2016. 620 p.
- HUSSEIN, Rehab. A. *et al.* Medicinal impact of microalgae collected from high rate algal ponds; phytochemical and pharmacological studies of microalgae and its application in medicated bandages. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, n. 1, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101237>.
- HUSSAIN Shadid, *et al.* **Arsenic and heavy metal (cadmium, lead, mercury and nickel) contamination in plant-based foods**. *Plant and Human Health*, v. 2, 2019. p. 447-490. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03344-6_20.
- HWANG, Jae Hoon *et al.* Use of microalgae for advanced wastewater treatment and sustainable bioenergy generation **Environ. Eng. Sci**, v. 33, n. 11, p. 882-897, 2016. <https://doi.org/10.1089/ees.2016.0132>.
- ISMAIL, Mona M.; ISMAIL, Gehan A.; EL-SHEEKH, Mostafa M. Potential assessment of some micro- and macroalgae species for bioethanol and biodiesel production. **Energy Sources Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, p. 1-17, 2020. <https://doi.org/10.1080/15567036.2020.1758853>.
- JAIS, Noor M. *et al.* The dual roles of phycoremediation of wet market wastewater for nutrients and heavy metals removal and microalgae biomass production. **Clean Technol Environ Policy**, v. 19, p. 37–52, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10098-016-1235-7>.
- JAISHANKAR, Monisha *et al.* Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdiscip. Toxicol.**, v. 7, n. 2, p. 60-72, 2014. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>.

- JACKSON, Craig M. *et al.* Defining and measuring biological activity: applying the principles of metrology. **Accreditation and quality assurance**, v. 12, n. 6, p. 283-294, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00769-006-0254-1>.
- KADUKOVA, Jana; VIRCIKOVA, Edita. Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption. **Environ Int.** v. 31, p. 227–232, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.09.020>.
- KANWAR, Preeti; MISHRA, Tulika; MUKHERJEE, Gunjan. Microbial Bioremediation of Hazardous Heavy Metals. In: Prashanthi M, Sundaram R, Jeyaseelan A, Kaliannan T (eds) **Bioremediation and Sustainable Technologies for Cleaner Environment**. p. 281-293, 2017. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48439-6_21.
- KRUSOK, Ivo *et al.* Characterization of algal and microbial community grown in a wastewater treating batch photo-bioreactor inoculated with lake water. **Algal Research**, v. 11, p. 421-427, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.005>.
- KUBE, Matthew *et al.* The impact of wastewater characteristics, algal species selection and immobilisation on simultaneous nitrogen and phosphorus removal. **Algal Research**, v. 31, p. 478–488, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.01.009>.
- KUMAR, K. Suresh *et al.* Microalgae—a promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicol Environ Saf**, v. 113, p. 329–352, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.019>.
- KUMAR, Amit *et al.* CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 7, p. 371–380, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.04.004>.
- KUMAR, Laura; BHARADVAJA, Navneeta. A review on microalgae biofuel and biorefinery: challenges and way forward. **Energy Sources Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, p. 1-24, 2020. <https://doi.org/10.1080/15567036.2020.1836084>.
- LARSEN, Tove A. *et al.* Emerging solutions to the water challenges of an urbanizing world. **Science**, v. 352, n. 6288, p. 928-933, 2016. <https://doi.org/10.1126/science.aad8641>.
- LEE, YuanKun. **Algal Nutrition – Heterotrophic Carbon Nutrition**. In: Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. p. 116–124, 2004. <https://doi.org/10.1002/9780470995280.ch7>.

- LEITE, Gustavo B.; ABDELAZIZ, Ahmed E. M; HALLENBECK, Patrick C. Algal biofuels: Challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 134–141, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.007>.
- LEONG, Yoong Kit, CHANG, Jo-Shu. Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. **Bioresour. Technol.**, n. 303, 2020. [10.1016/j.biortech.2020.122886](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122886).
- LIU, Lei; HALL, Geof; CHAMPAGNE, Pascale. Disinfection processes and mechanisms in wastewater stabilization ponds: a review. **Environmental Reviews**, v. 26, n. 4, p. 417-429, 2018. <https://doi.org/10.1139/er-2018-0006>.
- LIU, Lei; HALL, Geof; CHAMPAGNE, Pascale. Effects of Environmental Factors on the Disinfection Performance of a Wastewater Stabilization Pond Operated in a Temperate Climate. **Water**. v. 8, n. 1, p. 5, 2016. <https://doi.org/10.3390/w8010005>.
- LUO, Yunlong; LE-CLECH, Pierre; HENDERSON, Rita. K. Simultaneous microalgae cultivation and wastewater treatment in submerged membrane photobioreactors: A review. *Algal Research*, v. 24, p. 425–437, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.10.026>.
- MANTOVANI, Marco *et al.*, Outdoor pilot-scale raceway as a microalgae-bacteria sidestream treatment in a WWTP, **Science of the Total Environment**, v. 710, p. 135583, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135583>.
- MARCON, Alexandre Endres. **Remoção de Coliformes fecais com microalgas (*Chlorella*) imobilizadas em matriz de alginato de cálcio**. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2005.
- MARYJOSEPH, Shanthamareen; KETHEESAN, Balachandran. Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: A review of challenges and opportunities. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 2, p. 100046, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2020.100046>.
- MATAMOROS, Víctor *et al.* Assessment of the mechanisms involved in the removal of emerging contaminants by microalgae from wastewater: A laboratory scale study. **J. Hazard. Mater.**, v. 301, 197–205, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.08.050>.
- MATAMOROS, Víctor *et al.* Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: A pilot-scale

- study. **J. Hazard. Mater.** 288, 34–42, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.002>.
- MENNAA, Fatima Zahra; ARBIB, Zouhayr; PERALES, José Antonio Urban wastewater treatment by seven species of microalgae and algal bloom: Biomass production, N and P removal kinetics and harverstability. **Water Research**, v. 83, p. 42-51, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.06.007>.
- MEZRIOUI, Nour-Edine; OUFDOU, Khalid; BALEUX, Bernard. Dynamics of non-O1 *Vibrio cholerae* and fecal coliforms in experimental stabilization ponds in the arid region of Marrakesh, Morocco, and the effect of pH, temperature, and sunlight on their experimental survival. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 6, p. 489–498, 1995. <https://doi.org/doi:10.1139/m95-065>.
- MISHRA, Sandhya *et al.* **Heavy metal contamination: an alarming threat to environment and human health**. In: Environmental Biotechnology: For Sustainable Future, Springer, Singapore, 2019, p 103-125.
- MOHD UDAIYAPPAN, Ainil Farhan *et al.* A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v. 20, p. 8–21, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.09.006>.
- MOLAZADEH, Marziyeh *et al.* The Use of Microalgae for Coupling Wastewater Treatment with CO₂ Biofixation. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, p. 42, 2019. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00042>.
- MOLLEDA, Patricia *et al.* Removal of wastewater pathogen indicators in a constructed wetland in Leon, Spain, **Ecological Engineering**, v. 33, p 252-257, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.05.001>.
- MONFET, Evelyne.; UNC, Adrian. Defining wastewaters used for cultivation of algae. **Algal Research**, v. 24, p. 520–526, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.008>.
- MONKONSIT, Saranya; POWTONGSOOK, Sorawit; PAVASANT, Prasert. Comparison between Airlift Photobioreactor and Bubble Column for Skeletonema Costatum Cultivation. **Engineering Journal**, v. 15, p. 53-64, 2011. <https://doi.org/10.4186/ej.2011.15.4.53>.
- MUHAMMAD, Bilal *et al.* Waste biomass adsorbents for copper removal from industrial wastewater: A review. **J. Hazard Mater.**, n. 263, p. 322-333, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.07.071>.

- NAJA, Ghinwa; VOLESKY, Bohumil. The Mechanism of Metal Cation and Anion Biosorption. **Microbial Biosorption of Metals**, p. 19-58, 2011. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0443-5_3.
- NAJA, Ghinwa Melodie; MURPHY, Vanessa; VOLESKY, Bohumil. Biosorption, Metals. In: **Encyclopedia of Industrial Biotechnology**. John Wiley & Sons, Inc., 2010. <https://doi.org/10.1002/9780470054581.eib166>.
- NORSKER, Niels H. *et al.* Microalgal production — A close look at the economics. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 1, p. 24–27, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.08.005>
- NORTON, Trevor A.; MELKONIAN, Michael; ANDERSEN, Robert A. Alga biodiversity. **Phycology**, v. 35, n. 4, p. 208-326, 1996. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-35-4-308.1>.
- NURDOGAN, Yakup; OSWALD, William J. Enhanced nutrient removal in high-rate ponds. **Water Science and Technology**, v. 31, n. 12, p. 33–43, 1995. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(95\)00490-E](https://doi.org/10.1016/0273-1223(95)00490-E).
- OLIVEIRA, Robson C; PALMIERI, Mauricio; JUNIOR GARCIA, Oswaldo. **Biosorption of metals: state of the art, general features, and potential applications for environmental and technological processes**. In: Prog n Biomass Bioenergy Prod, 2011. <https://doi.org/10.5772/17802>.
- PAPIRIO, Stefano *et al.* Heavy Metal Removal from Wastewaters by Biosorption: Mechanisms and Modeling. **Environmental Chemistry for a Sustainable World**, v. 8, p. 25-63, 2017. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-58622-9>.
- PAWAR, Sanjay. Effectiveness mapping of open raceway pond and tubular photobioreactors for sustainable production of microalgae biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 62, p. 640-653, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.04.074>.
- PIRES, José. C. M.; ALVIM-FERRAZ, Maria. C. M.; MARTINS, Fernando. G. Photobioreactor design for microalgae production through computational fluid dynamics: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 249-254, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.064>.
- PLACZEK, Malgorzata; PATYNA, Agnieszka; WITCZAK, Stanislaw. Technical evaluation of photobioreactors for microalgae cultivation. **E3S Web of**

- Conferences**, v. 19, 2017 <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20171902032>.
- PRASANNA, Radha *et al.* Prospecting cyanobacteria-fortified composts as plant growth promoting and biocontrol agents in cotton **Exp. Agric.**, v. 51, n. 1, p. 42-65, 2015. <https://doi.org/10.1017/S0014479714000143>.
- PRATT, Robertson *et al.* Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella*. **Science**, v. 99, p. 351-352, 1944. <https://doi.org/10.1126/science.99.2574.351>.
- PRIYADARSHANI, Indira; SAHU, Debaprasad; RATH, Biswajit. Microalgal bioremediation: current practices and perspectives. **J Biochem Technol**, v. 3, n. 3, p. 299–304, 2011.
- QUEVEDO, Claudia Maria Gomes de; PAGANINI, Wanderley da Silva. Impactos das atividades humanas sobre a dinâmica do fósforo no meio ambiente e seus reflexos na saúde pública. **Ciênc. Saúde Coletiva**, v. 16, n. 8, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232011000900021>.
- RAHEEM, Abdul *et al.* A review on sustainable microalgae based biofuel and bioenergy production: Recent developments. **Journal of Cleaner Production**, v. 181, p. 42–59, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.125>.
- RAMANNA, Luveshan. *et al.* A novel organic dye-based approach to increase photon flux density for enhanced microalgal pigment production. **Journal of Cleaner Production**, v. 198, p. 187–194, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.016>.
- RANI, Swati *et al.* Review of Challenges for Algae-Based Wastewater Treatment: Strain Selection, Wastewater Characteristics, Abiotic, and Biotic Factors. **Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste**, v. 25, p. 1-15, 2021. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)HZ.2153-5515.0000578](https://doi.org/10.1061/(ASCE)HZ.2153-5515.0000578).
- RAWAT, I *et al.* Improving the feasibility of producing biofuels from microalgae using wastewater. **Environ Technol.**, v. 34(13–14), p. 1765–1775, 2013. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.826287>.
- RENUKA, Nirmal *et al.* Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 5, p. 1529–1537, out. 2013. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9982-x>.
- RICHARDS, Samia; DAWSON Julian; STUTTER, Marc. The potential use of natural vs commercial biosorbent material to remediate stream waters by

- removing heavy metal contaminants. **J. Environ. Manag.**, v. 231, p. 275-281, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.10.019>.
- RIVERA-UTRILLA, José *et al.* Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. **Chemosphere** n. 93, v. 7, 1268–1287, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.07.059>.
- SARMAH, Pampi *et al.* Microalgal biomass generation by phycoremediation of sewage water: an integrated approach for production of antioxidant and value added products. **Vegetos**, v. 32, n. 4, p. 556–563, 1 dez. 2019. <https://doi.org/10.1007/s42535-019-00056-x>.
- SCHWARZENBACH, René P. *et al.* The challenge of micropollutants in aquatic systems, **Science**, v. 313, 5790, p. 1072–1077, 2006. <https://doi.org/10.1126/science.1127291>.
- SENHORINHO, Gerusa N. Andrade. **Antibacterial activity of freshwater green microalgae isolated from water bodies near abandoned mine sites in Ontario, Canada**. Tese de Doutorado. Faculty of Graduate Studies, Laurentian University; 2018.
- SHAH, Aamir Ishaq *et al.* Prospectives and challenges of wastewater treatment technologies to combat contaminants of emerging concerns. **Ecol. Eng.** v. 152, 105882, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.105882>.
- SHARAFI, Kiomars *et al.* Comparison of the efficiency of extended aeration activated sludge system and stabilization ponds in real scale in the removal of protozoan cysts and parasite ova from domestic wastewater using Bailenger method: a case study, Kermanshah, Iran. **Desalination water treatment**, v. 55, p. 1-7, 2015. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.923333>.
- SHARMA, Gulshan Kumar *et al.* Circular economy fertilization: Phycoremediated algal biomass as biofertilizers for sustainable crop production. **Journal of Environmental Management**, v. 287, 112295, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112295>.
- SHI, Wenxin *et al.* Removal of estrone, 17 α -ethinylestradiol, and 17 β -estradiol in algae and duckweed-based wastewater treatment systems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 17(4), p. 824-833, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0301-7>.

- SIEBERS, Nina *et al.* Towards phosphorus recycling for agriculture by algae: Soil incubation and rhizotron studies using ^{33}P -labeled microalgal biomass. **Algal Research**, v. 43, 101634, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101634>.
- SILVA, Débora Fernanda Santos *et al.* Separation of microalgae cultivated in anaerobically digested black water using *Moringa Oleifera* Lam seeds as coagulant. **Journal of Water Process Engineering**, v. 39, 101738, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101738>.
- SILVA, Gustavo Henrique Ribeiro da *et al.* Feasibility of closing cycles from black water by microalgae-based technology. **Algal Research**, v. 44, 101715, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101715>.
- SILVA, N. F. P. *et al.* Towards sustainable microalgal biomass production by phycoremediation of a synthetic wastewater: A kinetic study. **Algal Research**, v. 11, p. 350–358, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.07.014>.
- SINTON, Lester W. *et al.* Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 1122-1131, 2002. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.3.1122-1131.2002>.
- SNIS. **Esgotamento Sanitário**. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, Ministério do Desenvolvimento Regional. 2019. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/painel-informacoes-saneamento-brasil/web/painel-esgotamento-sanitario>. Acesso em: 27 jul. 2021.
- SUTHERLAND, Donna L; RALPH, Peter J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants - Opportunities and challenges. **Water Research**, v. 164, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114921>.
- THOMAS, Patrick K *et al.* A natural algal polyculture outperforms an assembled polyculture in wastewater-based open pond biofuel production. **Algal Research**, v. 40, 101488, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101488>.
- TING, Han *et al.* Progress in microalgae cultivation photobioreactors and applications in wastewater treatment: A review. **Int J Agric & Biol Eng**, v. 10, p. 1–29, 2017. <https://doi.org/10.3965/j.ijabe.20171001.2705>.
- TIWARI, Bhagyashree *et al.* Review on fate and mechanism of removal of pharmaceutical pollutants from wastewater using biological approach. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 1–12, 1 jan. 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.042>.

TREDICI, Mario R. *et al.* Techno-economic analysis of microalgal biomass production in a 1-ha Green Wall Panel (GWP®) plant. **Algal Research**, v. 19, p. 253–263, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.09.005>.

UGWU, Charles U.; AOYAGI, Hideki; UCHIYAMA, Hiroo. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, v. 99 p. 4021-4028, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.046>.

VASSALLE, Lucas *et al.* Behavior of uv filters, uv blockers and pharmaceuticals in high rate algal ponds treating urban wastewater. **Water** (Switzerland), v. 12, p. 1–17, 2020. <https://doi.org/10.3390/w12102658>.

VON SPERLING, Marcos. **Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal**. Volume 1. IWA Publishing, London, 2007, 181 p.

WANG, Bei; LAN, Christopher Q.; HORSMAN, Mark. Closed photobioreactors for production of microalgae biomasses. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 904-912, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.01.019>.

WHUANG, Shy Chyi *et al.* Use of spirulina biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. **Algal Research**, v.15, p. 59-64, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.02.009>.

WU, Yi-Cheng *et al.* Performance of bioelectrochemical systems inoculated with *Desmodesmus* sp. A8 under different light sources. **Bioremed J**, v. 20, p. 233–239, 2016. <https://doi.org/10.1080/10889868.2016.1212809>.

XIONG, Jiu-Qiang; KURADE, Mayur B; JEON, Byong-Hun. Can microalgae remove pharmaceutical contaminants from water? **Trends Biotechnol.** v. 36, n. 1, p. 30–44, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.09.003>.

XU, Ling *et al.* Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities. **Engineering in Life Sciences**, v. 9, n. 3, p. 178–189, 2009. <https://doi.org/10.1002/elsc.200800111>.

YEN, Hong Wei *et al.* Design of Photobioreactors for Algal Cultivation. **Biofuels from Algae**, p. 23–45, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59558-4.00002-4>.

YIN-HU, Wu *et al.* Biomass production of a *Scenedesmus* sp. under phosphorous-starvation cultivation condition. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 193–198, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.037>.

ZHOU, Wenguang *et al.* Biomitigation of carbon dioxide using microalgal systems: Advances and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.065>.

ZERAATKAR, Amin K. *et al.* Potential use of algae for heavy metal bioremediation, a critical review. **Journal of Environmental Management**, v. 181, p. 817–831, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.059>.

ZITTELLI, Graziella C. *et al.* Photobioreactors for Mass Production of Microalgae. **Handbook of Microalgal Culture**, p. 225–266. 2013. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch13>.

ZOUBOULIS, Anastasios; TOLKOU, Athanasia. Effect of climate change in wastewater treatment plants: Reviewing the problems and solutions. **Managing Water Resources Under Climate Uncertainty: Examples from Asia, Europe, Latin America, and Australia**, p. 197–222, 2015.

Autores

Gustavo H. R. da Silva^{1,*}, Caroline M. Erba Pompei¹, Hugo Renan Bolzani¹, Letícia Alves Martins de Carvalho², Luiza Maria Fernandes²

1. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP- FEB), Bauru, SP, Brasil.
2. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Bauru, SP, Brasil.

* Autor para correspondência: gustavo.ribeiro@unesp.br

Microalgas como agentes de biorremediação ambiental

Dhyogo Mileo Taher, Beatriz Jacob-Furlan, Valeria Cristina Pereira Antezana, Laura Sebben Galarce, Rafael Xisto Vieira Filho, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c6>

Resumo

Com grande capacidade de biorremediação ambiental, as microalgas são excelentes aliadas para um futuro verde mais sustentável. Microorganismos unicelulares de alta capacidade de reprodução, as microalgas alimentam-se de fontes de nitratos, sulfatos, fosfatos e carbonatos. Da mesma forma, apresentam habilidade de serem agentes fixadoras de gases poluentes, tais como NO_x , CO_x e até SO_x . O objetivo desse capítulo é contextualizar a tecnologia de cultivo de microalgas à capacidade de biorremediação que esses microrganismos podem apresentar expostas a diferentes tipos de resíduos.

Palavras-chave: biorremediação, efluentes animais, microalgas, meio ambiente, sustentabilidade.

1. Introdução

No final do século XX as microalgas passaram a ser muito estudadas, devido a difusão do termo sustentabilidade, visto que os recursos naturais são esgotáveis e finitos, e para isso, era necessário procurar meios renováveis e amigáveis ao ambiente para produção de bioprodutos, bioenergia e até mesmo biorremediação ambiental (CONTANZA, 1994). Sendo assim, a comunidade científica se dedicou fielmente em desenvolver pesquisas a respeito das microalgas, desde a produção de biocombustíveis, extração de biomassa e biopolímeros e produção de hidrogênio (TAHER, 2013).

Microrganismos de fácil reprodução, as microalgas são unicelulares e ganham considerável destaque no universo científico (FURLAN et. al., 2020). Elas possuem propriedades biológicas heterotróficas e autotróficas, sendo

cultivadas em ambientes abertos ou reatores fechados, com regime alimentar à base de compostos orgânicos. Elas são as responsáveis pela maior parte da produção de oxigênio mundial, presentes em oceanos e lagos e lagoas naturais ao redor do mundo (LEHMUSKERO, 2018).

Contudo, apresentam uma certa delicadeza em seus cultivos, e quando muito expostas podem ser contaminadas (ANTEZANA, *et al.*, 2020). Partindo desse pressuposto, e sabendo que as microalgas possuem um potencial explorado em biorremediação ambiental, um novo leque de possibilidades científicas se abre com relação ao tratamento de efluentes.

O objetivo desse capítulo é apresentar as microalgas como potenciais agentes biorremediadores de variados resíduos gerados, como gases e efluentes, e o estado da arte dessa tecnologia.

2. Microalgas como agentes biorremediadores de gases

As microalgas possuem a característica de fixar o CO₂ e mitigar as emissões de gases responsáveis pelo aquecimento global (Zhao *et al.*, 2015) e sua utilização para esse fim é considerada renovável, sustentável e ambientalmente adequada (RINGSMUTH, LANDSBERG e HANKAMER, 2016).

A capacidade de fixação do CO₂ pelas microalgas fez com que fossem propostos modelos de tratamento de remoção desse gás da fumaça de exaustão de usinas termelétricas, bem como a diminuição de gases estufa (HELWANI *et al.*, 2012). As microalgas apresentam um bom potencial de crescimento em concentrações de CO₂ na faixa de 10% a 20%, seja proveniente de fontes puras (ONO e CUELLO, 2003, JIANG *et al.*, 2013) ou de gases de exaustão industrial (HAMASAKI *et al.*, 1996; BROWN, 1996; DOUCHA, STRAKA e LIVANSKY, 2005; DOUSKOVA *et al.*, 2009; BORKENSETEIN *et al.*, 2011; KUMAR *et al.*, 2011). A injeção direta da fumaça de exaustão de indústrias reduz os custos de pré-tratamento, porém, expõe as microalgas a condições extremas como altas concentrações de CO₂, presença em grandes quantidades de compostos químicos inibitórios e altas temperaturas (PIRES *et al.*, 2012).

Em recentes trabalhos a contribuição das microalgas na remoção do CO₂ dos gases de exaustão foi bastante questionada, uma vez que o armazenamento deste gás não é permanente e a eficiência energética do processo é baixa (FERNÁNDEZ *et al.* 2012; GRIERSON, STREZOV e BENGTTSSON, 2013).

Contudo, a biomassa de microalgas pode ser utilizada como matéria-prima de inúmeros produtos e bioprodutos, como biocombustíveis, fertilizantes, pigmentos, entre outros, agregando valor ao processo e também substituindo uma quantidade equivalente de combustíveis fósseis (FERNÁNDEZ *et al.*, 2012).

A concentração de CO₂ em gases de exaustão é normalmente 400 vezes maior que a atmosférica (LAM e LEE, 2011; MCGINN *et al.*, 2011). A taxa de fixação desse gás pelas microalgas é limitada devido aos componentes tóxicos e ácidos presentes nos gases de exaustão (LEE *et al.*, 2002). Porém, aprimorando-se a produção de biomassa de microalgas pela adição de fatores de crescimento aos cultivos pode fazer com que a resistência aos compostos químicos nocivos e as taxas de fotossíntese sejam aumentadas (TASTAN *et al.*, 2013).

Sabe-se que os compostos sulfurados e nitrogenados presentes na fumaça de exaustão atuam como inibidores do crescimento de microalgas. Esses compostos mais o CO₂ reduzem o pH do meio de cultivo. Uma solução apontada por Maeda *et al.* (1995) é a adição de CaCO₃ aos cultivos para estabilizar o pH e não haver perdas por acidificação.

O gás de combustão compreende tipicamente 9,5 - 16,5% (v/v) de CO₂, 2 - 6,5% (v/v) de O₂, CO, 100 – 300 ppm de NO_x, 280 – 320 ppm de SO_x, metais pesados e partículas (Lee *et al.*, 2000; Lam, lee e mohamed *et al.*, 2012). O SO₂ é derivado dos SO_x, hidrolisados em água e gerando íons H⁺, o que faz com que o pH do meio diminua. O SO₄²⁻ e o HSO₄⁻ derivados da hidrólise do SO₂ são compostos inibitórios do crescimento das microalgas. Lam, Lee e Mohamed *et al.* (2012) e Zhao e Su (2014), respectivamente, relatam que concentrações superiores a 60 e 100 ppm inibem completamente os cultivos de quase todas as espécies de microalgas.

Além da concentração, o efeito de inibição causado por SO_x varia também de acordo com a fonte da fumaça de exaustão. Os gases de exaustão gerados por diferentes indústrias exercem graus diferentes de toxicidade (LAM *et al.*, 2012). De forma mais ampla, os efeitos de inibição dependem das características das espécies de microalgas, das condições de crescimento, das concentrações e da origem dos poluentes (CHEAH *et al.*, 2015). Por isso, sistemas de dessulfurização dos gases são interessantes para não diminuir a taxa de crescimento das algas.

Os compostos nitrogenados (NO_x) presentes nos gases de exaustão são formados por 5% a 10% (v/v) de NO_2 e 90% a 95% de NO (ZHAO e SU, 2014). As microalgas podem absorver o nitrogênio na forma de NO_3^- , NO_2^- , NO , N_2 e NH_4^+ (VAN DEN HENDE, VERVAEREN e BOON, 2012). Diferentemente do SO_2 , o NO não apresenta impacto direto no crescimento das microalgas, sendo que altas concentrações (acima de 300 ppm) são toleradas e não inibem os cultivos (KUMAR *et al.*, 2010). De acordo com Cheah *et al.* (2015) o NO dissolvido nos gases de exaustão podem servir como fonte alternativa de nitrogênio, uma vez que é facilmente absorvido pelas microalgas. Porém, ainda de acordo com os autores, o efeito positivo desse composto químico é limitado e concentrações muito altas podem interferir de forma negativa nos cultivos, mas não inibindo o crescimento de forma total.

As espécies de microalga *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. são as mais proeminentes e que apresentam maior resistência quando submetidas a concentrações de CO_2 , SO_x e NO_x , demonstrando pouca ou nenhuma inibição em seus crescimentos (CHEAH *et al.*, 2015). Cultivos mistos dessas espécies utilizados para o tratamento de resíduo suíno biodigerido apresentaram ganho de produção de biomassa de 30% quando submetidos a gases de exaustão de combustão (DE GODOS, *et al.*, 2010).

A combinação da fixação de CO_2 de gases de combustão e remoção de nutrientes de águas residuais pode fornecer uma alternativa muito promissora às atuais estratégias de captura de CO_2 – esse é também outro importante benefício ambiental desses microrganismos (PIRES *et al.*, 2012). As microalgas podem utilizar águas residuais, como esgotos municipais, industriais e rejeitos orgânicos agrícolas como meio de cultivo para seu crescimento, bem como fonte de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes (SAWAYAMA *et al.*, 1995; CONVERTI *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2009).

Portanto, as microalgas são capazes de biofixar CO_2 e remover SO_x e NO_x de forma concomitante (HO *et al.*, 2011; VAN DEN HENDE, VERVAEREN e BOON, 2012; KAO *et al.*, 2014). Esse processo pode ser considerado como um tipo de fitorremediação em instalações industriais, uma vez que é uma maneira econômica de pré-tratamento de gases de combustão antes do descarte direto à atmosfera (CHEAH *et al.*, 2015).

2.1. Trabalhos utilizando microalgas como agentes biorremediadores de gases de exaustão

Oloffson *et al.*, (2015) cultivaram microalgas das espécies *Tetraselmis* sp. e *Skeletonema marinoi* em gases de exaustão da indústria de cimento. A fumaça continha um teor de 12% a 15% de CO₂. As quantidades de NO_x e SO₂ eram de < 800 mg/Nm³ e < 50 mg/Nm³ respectivamente. Os fotobiorreatores utilizados nos experimentos eram de acrílico e poliestireno com volume de 5,8 L e 4,2 L respectivamente, com regime de luz de 16 horas e 8 horas de escuro. Diariamente um pulso do gás era inserido no tempo de 40 s a 120 s à vazão de 5 L.min⁻¹ no reator maior e 3 pulsos de 60 s a uma vazão de 1 L.min⁻¹ no reator menor. O período de cultivo foi de 10 dias. Em seus melhores resultados, a espécie *Tetraselmis* sp. cultivada com gases de exaustão apresentou ganho em biomassa de 25,3% quando comparado aos cultivos controle, onde havia apenas fornecimento de ar atmosférico. Não houve diferença significativa no conteúdo lipídico da biomassa das algas nos dois experimentos.

Além disso, os autores fizeram um comparativo entre cultivos de *Skeletonema marinoi* em fumaça de exaustão da indústria de cimento e cultivos com fornecimento de CO₂ (13,5%) industrial. Ao final dos 10 dias de experimento, as algas cultivadas nos gases de exaustão apresentaram produção de biomassa de 0,81 g.L⁻¹, mais que os 0,77 g.L⁻¹ produzidos nos cultivos com apenas CO₂. Novamente, não houve diferença significativa do teor de lipídeos nos diferentes cultivos. Os experimentos demonstraram a não toxicidade do gás frente às microalgas.

Lara-Gil, Senés-Guerrero e Pacheco (2016) utilizaram a espécie *Desmodesmus abundans*, selecionada e tolerante a CO₂, para o tratamento de gases de exaustão também da indústria de cimento. Foi utilizado um fotobiorreator de 3 litros e o regime de iluminação foi constante. O gás continha 25% de CO₂, 800 ppm de NO e 200 ppm de SO₂ e a vazão utilizada nos experimentos foi de 100 mL.min⁻¹. Dois esquemas de aeração foram testados: aeração contínua com os gases de exaustão e 24 horas de aeração com a fumaça seguidos de 24 horas de aeração apenas com ar atmosférico. Controles com a adição de CO₂ industrial também foram realizados. No sistema de aeração contínua com os gases de exaustão, 60 horas após o início dos testes as microalgas foram totalmente inibidas.

Os cultivos com os ciclos de 24 horas de aeração com os gases de exaustão apresentaram uma produção máxima de biomassa da ordem de 1,497 g.L⁻¹, superiores ao controle com CO₂ (1,197 g.L⁻¹). A taxa de fixação do CO₂ também foi maior nos cultivos com a fumaça (0,416 ± 0,022 gCO₂.L⁻¹.d⁻¹) quando comparado ao controle (0,335 ± 0,015 g CO₂.L⁻¹.d⁻¹). Os autores também fizeram um comparativo do conteúdo proteico da biomassa de microalgas nas duas condições. Nos cultivos com fumaça, o teor de proteínas foi de 28,48 ± 3,27% m/m, também superior ao controle (24,33 ± 3,13% m/m).

Kao *et al.* (2014) utilizaram a microalga *Chlorella* sp. MTF-15 como agente biorremediador da fumaça de exaustão de uma usina de produção de aço. Foram testados 3 tipos de gases, provenientes de 3 tipos de fornos das diferentes etapas de produção do aço. Os 3 gases possuíam de 24% a 26% de CO₂, 8 a 80 ppm de NO_x e 15 a 90 ppm de SO₂. Os experimentos foram realizados em duas etapas: escala laboratorial e escala piloto. Em laboratório os fotobiorreatores possuíam volume de 1 L, a injeção de gás era de 0,2 vvm e foram testadas diluições de 1, 1/2, 1/4 e 1/8 da fumaça em ar durante 7 dias. Foram realizados controles com CO₂ puro na diluição de 3%, 6%, 12,5% e 25% e apenas ar atmosférico. Os experimentos em escala piloto consistiram em fotobiorreatores de 50 L, com injeção dos gases durante 12 horas pelo período de 3 meses. Foram repetidos os melhores resultados obtidos em laboratório. Nos experimentos laboratoriais, o melhor resultado atingido foi de 2,855 g.L⁻¹ de concentração final de biomassa, resultado aproximadamente 3 vezes maior do que os cultivos que continham apenas ar atmosférico.

O teor lipídico dos cultivos realizados nos diferentes gases e diferentes diluições variou de 21,5% a 41,6%. O cultivo controle, apenas com ar, apresentou teor de 34%. Os melhores percentuais de remoção dos gases foram de 50% para o CO₂, 95% para o NO_x e 93% para o SO₂. Quando repetidos os melhores resultados nos experimentos em escala piloto, a concentração final de biomassa atingida foi de 1,555 g.L⁻¹, evidenciando a dificuldade que se tem quando do escalonamento dos processos.

Li *et al.* (2011) testaram a microalga mutante *Scenedesmus obliquus* WUST4 (tolerante aos gases) em cultivos aerados com gás de exaustão de forno de coque de uma indústria na China. Após a seleção, os autores utilizaram reatores de 5 L com injeção de CO₂ a 20% e 0,2 vvm para a comprovação da

eficácia de fixação do gás. O regime de iluminação foi contínuo. Nesse experimento, ao final de 10 dias, o melhor resultado de produção de biomassa foi de 0,971 g.L⁻¹ e 63,4% de remoção do CO₂.

Posteriormente, os autores utilizaram fotobiorreatores de metilmetacrilato do tipo airlift com volume de 100 L para avaliar a biorremediação dos gases. O gás, antes de ser submetido às algas, passou por processos de pré-tratamento como resfriamento e remoção de cinzas. Os cultivos foram aerados no intervalo de 0,05 vvm a 0,5 vvm. A concentração de CO₂ foi ajustada entre as diluições de 6% a 18% para investigação do valor ótimo. A composição da fumaça consistiu em 18% de CO₂, 200 ppm ou menos de SO_x e 150 ppm de NO_x. Segundo os autores, a composição desse gás é similar à de gases gerados na queima de carvão em usinas termoeletricas, os resultados mostraram que as microalgas precisam se adaptar ao meio em que estão inseridas. Nos dois primeiros dias de cultivo, apenas 5% do CO₂ foi tratado, ao passo que ao final do 17º dia 64% do gás foi removido do meio de cultivo. Além disso, os autores identificaram a diluição de 12% do CO₂ do gás em ar e vazão de 0,1 vvm como os melhores parâmetros para sua fixação. A taxa de remoção do gás nessas configurações foi em torno de 65%. Esse trabalho evidencia a capacidade de biofixação do CO₂ pelas microalgas, seja ele puro ou em gases de exaustão.

Zhao *et al.* (2015) investigaram a possibilidade de cultivo de 3 diferentes espécies de microalgas (*Chlorella* sp., *Isochrysis* sp. e *Amphidinium carterae*) em uma simulação de gás de exaustão feito em laboratório. O experimento foi realizado em fases. Na primeira fase, as três espécies foram cultivadas por 7 dias em fotobiorreatores do tipo coluna com aeração composta apenas por CO₂ (15%) e N₂ (85%), sem a presença de gases tóxicos e vazão de 0,2 vvm. Com isso, foi possível identificar a espécie mais eficiente para a remoção de CO₂. Ao final dos 7 dias, a espécie *Chlorella* sp. atingiu a concentração de biomassa de 1,493 g.L⁻¹, *Isochrysis* sp. alcançou 1,080 g.L⁻¹ e o pior desempenho foi da espécie *Amphidinium carterae*, com uma concentração de apenas 0,016 g.L⁻¹, mostrando a não adaptação dessa espécie às condições impostas. Com isso, a espécie *Chlorella* sp. foi escolhida para a realização das próximas fases do experimento.

Na próxima etapa, as microalgas (*Chlorella* sp.) foram submetidas a 3 diferentes concentrações de CO₂ - N₂ na aeração (10% - 90%, 15% - 85%, 20%

- 80%, respectivamente) para a investigação da melhor configuração de fixação do CO₂ e conseqüente maior produção de biomassa. Foi constatado que a menor concentração de CO₂ (10%) apontou o melhor resultado, com concentração final aos 7 dias de experimento de 2,025 g.L⁻¹, contra 1,493 g.L⁻¹ na diluição de 15% e 1,170 g.L⁻¹ na diluição de 20%. Nota-se uma crescente inibição à medida que se aumenta a proporção de CO₂ no gás. Na terceira fase notou-se forte influência negativa do dióxido de enxofre. Na menor concentração, 100 ppm, houve uma diminuição da produção final de biomassa de 1,493 g.L⁻¹ para 0,593 g.L⁻¹. Na concentração de 250 ppm houve inibição quase total dos cultivos. Por fim, estudou-se o efeito do mercúrio nos cultivos. Pequenas quantidades desse metal pesado já são responsáveis por uma inibição considerável na produção de biomassa. 10 µg já são suficientes para diminuir a quantidade de biomassa praticamente à metade (1,493 g.L⁻¹ para 0,788 g.L⁻¹). Já entre 10 µg e 30 µg não há uma diferença grande no efeito inibitório, com produção final de 0,615 g.L⁻¹ para a maior quantidade de Hg. A Tabela 1 apresenta alguns trabalhos encontrados na literatura enfatizando a biorremediação ambiental.

Tabela 1. Trabalhos encontrados na literatura envolvendo microalgas e gases.

ESPÉCIE	EMIÇÃO	FBR	MEIO DE CULTIVO	ILUMINAÇÃO	REFERÊNCIA
<i>Scenedesmus</i> sp.	Queima de carvão	Lagoa (25 L)	Artificial + fatores de crescimento	Artificial 24 horas	Tastan e Tekinay (2016)
<i>Desmodesmus abundans</i>	Indústria de cimento	Fotobiorreator customizado – 1 L	BG11 modificado	Artificial 24 horas	Lara-Gil, Senés-Guerrero e Pacheco (2016)
<i>Tetraselmis</i> sp. e <i>Skeletonema marinoi</i>	Indústria de cimento	Airlift – 5,8 L e 4,2 L	Artificial Guillard f/2	Artificial 16 horas	Oloffson <i>et al.</i> , (2015)
ESPÉCIE	EMIÇÃO	FBR	MEIO DE CULTIVO	ILUMINAÇÃO	REFERÊNCIA
<i>Chlorella</i> sp.	Gás de exaustão artificial	Coluna 1 L	F/2	Artificial 24 horas	Zhao <i>et al.</i> (2015)
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Usina termoeleétrica a carvão	Lagoa tipo pista de corrida 1191 m ² e 310 m ³	Artificial	Natural	Cheng <i>et al.</i> (2015)
<i>Chlorella</i> sp. MTF-15	Indústria do aço	Coluna 1 L e 50 L	F/2 Modificado	Natural	Kao <i>et al.</i> (2014)

<i>Desmodesmus abundans</i> e <i>Scenedesmus</i> sp.	Gás de exaustão artificial	Erlenmeyer 27,5 mL	BD11	Artificial 24 horas	Lara-Gil, Álvarez e Pacheco (2014)
<i>Nannochloropsis limnetica</i>	Gás de combustão de casca de arroz	Coluna	ND	ND	Ronda <i>et al.</i> (2014)
<i>Nannochloropsis oceanic KA2</i>	Gás de exaustão	Lagoa tipo pista de corrida 8000 L	ND	Natural	Zhu <i>et al.</i> (2014)
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	Gás de exaustão	Coluna 0,1 L	ND	Artificial 24 horas	Jiang <i>et al.</i> (2013)
<i>Chlorella</i> sp., <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803, e <i>Tetraselmis suecica</i>)	Combustão de gás natural	Frascos 200 mL	Artificial, BG11 e ASP2	Artificial 24 horas	He, Subramanian e Tang (2012)
<i>Scenedesmus obliquus</i> WUST4	Forno de coque	Airlift 100 L	SE	Artificial 24 horas	Li <i>et al.</i> (2011)
<i>Chlorella</i> sp. MTF-7	Forno de coque	Coluna 50 L	F/2 modificado	Natural	Chiu <i>et al.</i> (2011)
<i>Chlorella emersonii</i>	Gás de exaustão	Airlift 5,5 L	ND	Artificial 24 horas	Borkenstein <i>et al.</i> (2011)
<i>Chlorella</i> sp.	Usina de cogeração	Coluna 300 L	Artificial	Natural	Kastanek <i>et al.</i> (2010)
<i>Scenedesmus</i> sp., <i>Chlorella</i> sp., <i>Nitzschia</i> sp., <i>Chlamydomonas</i> sp., <i>Oocystis</i> sp. e <i>Protoderma</i> sp.	Combustão de gás natural	Lagoa	ND	ND	De Godos <i>et al.</i> (2010)
<i>Scenedesmus</i> sp.	Gás de exaustão	Lagoa tipo pista de corrida 20000 L	ND	Natural	De Godos <i>et al.</i> (2010)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Gás de exaustão	Coluna 0,3 L	ND	Artificial 24 horas	Douskova <i>et al.</i> (2009)
<i>Chlorella</i> sp.	Combustão de gás natural	Biofilme 55 m ²	Artificial	Natural	Doucha, Straka e Lívanský (2005)
<i>Nannochloropsis salina</i>	Gás de exaustão	Lagoa tipo pista de corrida 600 L	ND	Natural	Matsumoto <i>et al.</i> (1997)
<i>Monoraphidium minutum</i>	Gás de exaustão	ND 0,3 L	ND	Artificial 24 horas	Zeiler <i>et al.</i> (1995)

A Tabela 2 apresenta informações acerca da quantidade de CO₂, NO_x e SO_x, além da vazão de gases de exaustão utilizada nos trabalhos pesquisados na literatura.

Tabela 2. Tolerância à toxicidade de diferentes espécies de microalgas a diferentes concentrações de CO₂, NO_x e SO_x.

ESPÉCIE	EMIÇÃO	CO ₂ (%)	NO _x (ppm)	SO _x (ppm)	INIBIÇÃO	REFERÊNCIA
<i>Chlorella</i> sp.	Usina de cogeração	8 – 10,2	38	3,8	Não inibida	Kastanek <i>et al.</i> (2010)
<i>Chlorella</i> sp.	Combustão de gás natural	6 – 8	37	-	Não inibida	Doucha, Straka e Lívanský (2005)
<i>Nannochloropsis limnetica</i>	Gás de combustão de casca de arroz	10	-	25	Inibida	Ronda <i>et al.</i> (2014)
<i>Chlorella</i> sp. MTF-15	Indústria do aço	25	70 – 80	80 – 90	Leve inibição	Kao <i>et al.</i> (2014)
<i>Chlorella</i> sp. MTF-7	Forno de coque	23	78	87	Não inibida	Chiu <i>et al.</i> (2011)
<i>Scenedesmus obliquus</i> WUST4	Forno de coque	18	150	200	Não inibida	Li <i>et al.</i> (2011)
<i>Scenedesmus</i> sp., <i>Chlorella</i> sp., <i>Nitzschia</i> sp., <i>Chlamydomonas</i> sp., <i>Oocystis</i> sp. e <i>Protoderma</i> sp.	Combustão de gás natural	7,5	77	-	Não inibida	De Godos <i>et al.</i> (2010)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Simulação de gás de combustão de carvão	12	100	60	Não inibida	Radmann <i>et al.</i> , 2011
<i>Synechococcus nidulans</i>	Simulação de gás de combustão de carvão	12	100	60	Inibida	Radmann <i>et al.</i> (2011)
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Simulação de gás de exaustão	15	300	-	Não inibida	Nagase <i>et al.</i> (2001)

3. Biorremediação de matéria orgânica

Os problemas ambientais nas últimas décadas são observados com mais frequência, principalmente após o crescimento populacional e da crescente demanda do setor industrial. As respostas que o meio ambiente nos apresenta a partir de cada atividade antropogênica é conhecida como impactos ambientais, onde poluentes são inseridos no meio ambiente, acarretando a modificação dos ecossistemas. Para manter o sistema em equilíbrio e o seu desenvolvimento

linear, os microrganismos presentes nesses ambientes realizam a degradação dos poluentes, onde são utilizados como fonte de nutrientes. O processo de biorremediação utiliza processos que reduzem os poluentes presentes no ambiente, a partir do processo metabólico microbiano (PEREIRA, 2012).

As demandas de consumo são consequência do crescimento populacional mundial. Para a produção de determinados produtos é obtido como resultado um grande volume de resíduos. Esses resíduos quando não tratados ou sem a realização de um pré-tratamento antes da deposição final ao ambiente, pode acarretar contaminação na água e no solo.

Em corpos hídricos, o lançamento elevado de matéria orgânica acarreta graves efeitos, como a eutrofização e o consumo do oxigênio, além das modificações físicas do curso do rio, ocasionando sérios distúrbios ambientais. Um dos principais fatores de poluição do solo é a crescente deposição de resíduos. A inserção de contaminantes no solo, provocam impactos negativos na cadeia alimentar, além de atingir águas superficiais e subterrâneas, comprometendo a biodiversidade, vetorização de doenças, além do desenvolvimento de problemas sociais.

Em corpos hídricos e nos solos, o número de microrganismos é elevado, assim, com o desenvolvimento dessas áreas, os microrganismos vão se adaptando às fontes de energia disponibilizadas para o seu desenvolvimento natural. A relação da biodiversidade é desenvolvida com a relação de comunidades microbianas, que auxiliam nos processos de remediação, onde ocorre a degradação dos compostos poluentes.

Uma das alternativas para a minimização dos impactos ambientais, proveniente de fontes antropogênicas é a utilização de comunidades microbianas, as quais são envolvidas na degradação de compostos orgânicos. As estruturas químicas desses poluentes apresentam influência da metabolização dos microrganismos, onde a maioria dos poluentes são biodegradados, além de serem fontes de nutrientes e energia.

3.1. Biorremediação de efluente suíno

Um dos grandes desafios da suinocultura é o destino dos dejetos, tanto por sua DBO ser extremamente elevada – cerca de 200 vezes maior que a do esgoto doméstico (TECPAR, 2002), como também pela grande quantidade de

animais. A Tabela 3 apresenta o crescimento na última década do número de suínos no Brasil. É importante ressaltar que além do crescimento da produção, existe um aumento na densidade de porcos por propriedade, o que torna a quantidade de dejetos mais significativa, visto que existe um limite para quanto o solo consegue receber de nutrientes sem se degradar.

Tabela 3. Efetivo de suínos no brasil (2009 - 2019).

ANO	EFETIVO DE REBANHO
2009	38.045.454
2010	38.956.758
2011	39.307.336
2012	38.795.902
2013	36.743.593
2014	37.930.307
2015	39.795.222
2016	40.053.184
2017	41.383.029
2018	41.231.856
2019	40.556.892

FONTE: Adaptado de IBGE (2020).

O procedimento mais comum para o tratamento desse efluente é pelo seu aproveitamento como fertilizante, aonde o dejetos fica em esterqueiras por cerca de 30 dias em sistemas anaeróbios ativos e depois é aplicado no solo (FÁVERO, 2003). Contudo, essa aplicação possui custos elevados e demanda um conhecimento muito específico das quantidades de nitrogênio, potássio e fósforo necessários pela planta que utilizará esse fertilizante como também demanda o conhecimento dessas quantidades no dejetos. Não obstante, dependendo da dieta do animal, poderá ser verificada uma quantidade excessiva de minerais como cobre e zinco nas plantas que utilizaram esse adubo (JONGBLOED, 2008).

Devido à alta quantidade de nutrientes que esse dejetos possui, se este não for devidamente tratado e/ou se o estudo do solo for insuficiente, pode

causar a eutrofização de mananciais e lençóis freáticos (GIRARD *et al.*, 2009), volatilização da amônia e degradação dos solos férteis por excesso de nutrientes (APSIMON, KRUSE e BELL, 1987). A Tabela 4 apresenta a composição do dejetos, observando demonstrando que além dos nutrientes em abundância, há um número expressivo de coliformes fecais, os quais têm grande potencial como causadores de doenças.

Tabela 4. Composição do dejetos suíno

PARÂMETRO	ABRANGÊNCIA
pH	6.3 – 6.5
Sólidos em Suspensão (mg/L)	20 500 – 46 500
Matéria orgânica no formato DBO ₅ (mg O ₂ /L)	13 400 – 40 000
Nitrogênio Kjeldahl total (mg N/L)	3000 – 5200
Nitrogênio amoniacal (mg N/L)	1820 – 3330
Fósforo (mg/L)	660 – 920
Potássio (mg/L)	1820 – 2690
Coliformes fecais (NMP/100 ml)	1.4×10^7 – 7.8×10^7

Notas: DBO₅ = demanda bioquímica de oxigênio em cinco dias; NMP = número mais provável. FONTE: Adaptado de Girard *et al.* (2009).

Dado esse contexto, a utilização de microalgas como uma alternativa para o tratamento desse efluente, pode ser de elevado impacto social e econômico, pois a biomassa gerada pode ser utilizada para a produção de biodiesel, sem exigir grande área para a sua criação (TAHER, 2013). A produção de biomassa pelas microalgas nesse método ainda agrega valor ao dejetos, tornando atrativo ao produtor realizar essa biorremediação.

A Tabela 5 apresenta a eficiência da remoção de nutrientes por microalgas segundo os experimentos de Taher (2013), Wang *et al.* (2010) e Woertz *et al.* (2009). Nos experimentos, diferentes efluentes e microalgas foram utilizadas, porém, a remoção de nutrientes em todas é superior a 70%, atestando a eficácia do método para diversos efluentes.

Tabela 6. Comparativo de remoção de nutrientes de diversos efluentes.

AUTOR	NUTRIENTE	% DE REMOÇÃO	MEIO DE CULTIVO	MICROALGA
Woertz <i>et al.</i> (2009)	Nitrogênio amoniacal Fosfato	99 99	Resíduo municipal sem pré tratamento	Mix contendo <i>Scenedesmus</i> sp.
Woertz <i>et al.</i> (2009)	Nitrogênio amoniacal Fosfato	96 99	Efluente da indústria de laticínio biodigerido	Mix contendo <i>Scenedesmus</i> sp.
Wang <i>et al.</i> (2010)	Nitrogênio amoniacal Fosfato	100 70,1	Efluente da indústria de laticínio biodigerido	<i>Chlorella</i> sp.
Taher (2013)	Nitrogênio amoniacal Fosfato	99,6 99,3	Efluente suíno biodigerido	<i>Scenedesmus</i> sp.

FONTE: Adaptado de Taher (2013).

3.2. Biorremediação de efluente bovino

O Brasil é um dos líderes mundiais na produção de carne bovina (EMBRAPA), de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2019 haviam 214,9 milhões de cabeças de bovinos no Brasil. A Figura 1 mostra a evolução de 2009 até 2019 da quantidade de cabeças de gado em território brasileiro.

Essa indústria pecuária é responsável pela produção de grandes volumes de efluentes com alta carga orgânica, devido à presença de sangue, esterco, gordura, conteúdo estomacal não-digerido ou conteúdo intestinal nesse material. Além disso, é relevante destacar as altas concentrações de nitrogênio e fósforo, e elevadas taxas de demanda química de oxigênio (DQO) dessa categoria de resíduo. Por conta dessas características, deve os mesmos sejam tratados de maneira adequada visto que a alta presença de nitrogênio e fósforo pode resultar em eutrofização de corpos d'água, contaminação dos lençóis freáticos e poluição do ar por volatilização de amônia (LU *et al.*, 2018; MARONEZE *et al.*, 2014). Em geral, esse tipo de resíduo é tratado por digestão anaeróbia. Apesar desse tratamento atingir níveis de DQO adequados, ele não é eficiente na remoção de nitrogênio e fósforo. Uma alternativa para a resolução desse impasse é a

biorremediação através das microalgas, capazes de utilizar os efluentes de gado como substrato para seu cultivo (LU, *et al.*, 2019; MULBRY, *et al.*, 2008).

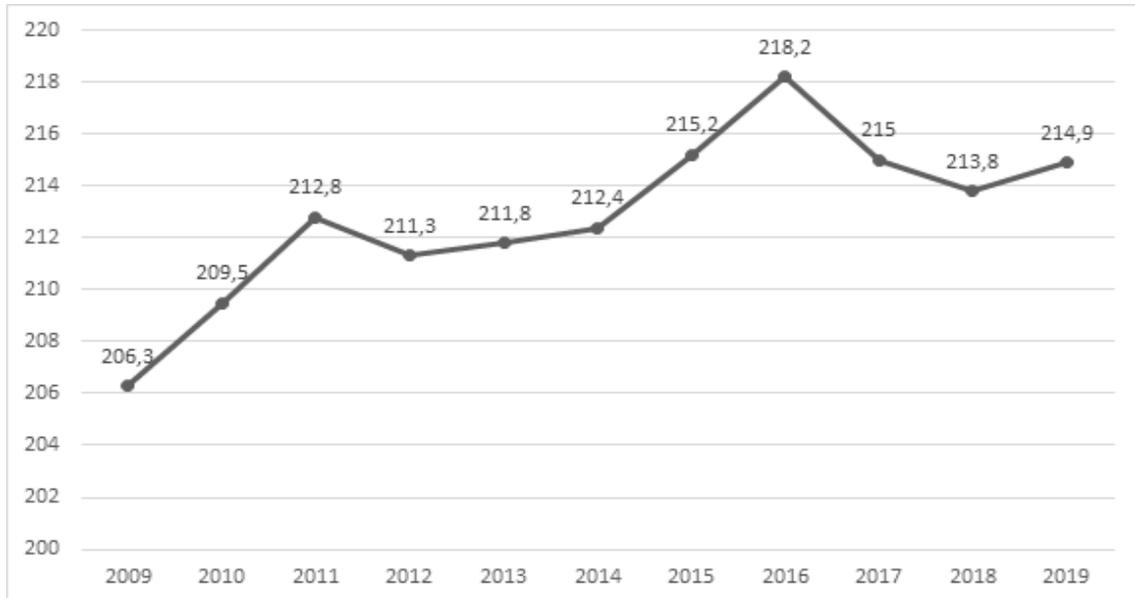


Figura 1. Efetivo do rebanho de bovinos no Brasil (em milhões).

FONTE: Adaptado IBGE (2020).

Os efluentes bovinos possuem algumas particularidades por conta de sua composição bioquímica. Geralmente, os resíduos líquidos provenientes do gado possuem traços de antibióticos e hormônios. Além disso, esse tipo de resíduo apresenta metais pesados em sua composição, o que em concentrações altas pode inibir o crescimento de microalgas e aumentar o risco de contaminação. A presença de traços de antibióticos, frequentemente encontrados em fezes e urina do gado, pode ser tóxica dependendo da espécie de microalga envolvida no processo de biorremediação e do antibiótico presente nos efluentes bovinos. As microalgas que são altamente resistentes a esse tipo de contaminante são dos seguintes gêneros: *Microcystis*, *Spirulina*, *Euglena*, *Nitzschia*, *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Neochloris* (LU *et al.*, 2019).

As espécies de microalgas utilizadas no processo de biorremediação influenciam na eficiência da remoção de nutrientes e na tolerância a substâncias tóxicas nos efluentes (LU *et al.*, 2019). Nos últimos anos, vários estudos foram realizados sobre o crescimento de microalgas e sua capacidade de remoção de

poluentes orgânicos e nutrientes de efluentes de gado em fotobiorreatores (MENDONÇA *et al.*, 2018).

4. Conclusões

As microalgas apresentam potenciais nas mais variadas áreas da ciência, indústria e de produtos. Como visto no capítulo, esses microrganismos podem ser utilizados na biorremediação de variados resíduos. Foram avaliadas diferentes espécies de microalgas expostas a diferentes efluentes, o grau de tolerância apresentado frente aos resíduos e a eficiência de biorremediação. Fica clara a possibilidade da utilização desses seres vivos com essa finalidade. Essa é mais uma alternativa aos diferentes métodos de biorremediação, viável, ecologicamente correta e renovável.

5. Referências

ANTEZANA, V. C. P., FURLAN, B. J., ZATTA, P. H. S., MARTINS, L. S., MARIANO, A. B. ESTUDO COMPARATIVO DO CRESCIMENTO DE MICROALGAS TETRADESMUS OBLIQUUS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO. In: Anais do I Congresso Virtual de Estudantes e Profissionais de Engenharia Ambiental e Sanitária. Anais. Goiânia (GO) Ambiente Virtual, 2020. DOI: 10.29327/ConVEPEAS.269630 Acesso em: 11/04/2021.

APSIMON, H.M.; KRUSE, M.; BELL, J.N.B. Ammonia emissions and their role in acid deposition. **Atmospheric Environment**, v. 21, p. 1939–1946, 1987.

ASSEMANY, Paula Peixoto., *et al.* Energy potential of algal biomass cultivated in a photobioreactor using effluent from a meat processing plant. **Algal Research**, 17, 53–60, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.04.018>.

CONTANZA, R. Economia Ecológica: uma agenda de pesquisa. 1994.

EMBRAPA. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/qualidade-da-carne/carne-bovina>> . Acesso em 28 ago. 2021

FÁVERO, J.A. Produção Suínos. Sistemas de Produção, 2. Versão Eletrônica. Jan., 2003. ISSN 1678-8850. Embrapa Suínos e Aves. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/SP/suinos/manejodejetos.html>>. Acesso em 28 ago. 2021

FURLAN, Beatriz Jacob; ZATTA, Pedro Henrique Siqueira; ANTENAZA, Valeria Cristina Pereira; MARTINS, Lauber de Souza; MARIANO, André Bellin., 2021. **Estudo do crescimento de microalgas em meio de cultivo CHU e dejetos suínos**. Meio Ambiente, Sustentabilidade e Tecnologia, Volume 6. 1ed. Belo Horizonte, Minas Gerais.: Editora Poisson, v. 6, p. 204-211. <http://dx.doi.org/10.36229/978-65-5866-094-1.CAP.24>

GIRARD, Matthieu *et al.* A review of the environmental pollution originating from the piggery industry and of the available mitigation technologies: towards the simultaneous biofiltration of swine slurry and methane this article is one of a selection of papers published in this special issue on biological air treatment. **Canadian Journal of Civil Engineering**, [S.L.], v. 36, n. 12, p. 1946-1957, dez. 2009. Canadian Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.1139/I09-141>.

HENA, S., *et al.* Dairy farm wastewater treatment and biodiesel production by *Arthrospira platensis* cultivation Dairy farm wastewater treatment and lipid accumulation by *Arthrospira platensis*. **Water Research**, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.057>.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/indicadores>>. Acesso em 27 ago. 2021

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>>. Acesso em 29 ago. 2021.

JONGBLOED, Age W. Environmental pollution control in pigs by using nutrition tools. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [S.L.], v. 37, n., p. 215-229, jul. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008001300026>.

KIM, Ji-Yeon; KIM, Hyun-Woo. Photoautotrophic Microalgae Screening for Tertiary Treatment of Livestock Wastewater and Bioresource Recovery. **Water Research**, 2017. <https://doi.org/10.3390/w9030192>.

LEHMUSKERO, A., Skogen Chauton, M., Boström, T. Light and photosynthetic microalgae: a review of cellular- and molecular-scale optical processes, *Prog. Oceanogr.* 168 (2018) 43– 56. [10.1016/j.pocean.2018.09.002](https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.09.002)

LU, Weidong *et al.* Critical processes and variables in microalgae biomass production coupled with bioremediation of nutrients and CO₂ from livestock farms: A review, **Science of the Total Environment**, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135247>.

LV, J., *et al.* Nutrients removal from undiluted cattle farm wastewater by the two-stage process of microalgae-based wastewater treatment. **Bioresource Technology**, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.085>.

MARONEZE, M. M., *et al.* Treatment of cattle-slaughterhouse wastewater and the reuse of sludge for biodiesel production by microalgal heterotrophic bioreactors. **Scientia Agricola**, 71(6), 521–524, 2014. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0092>.

MENDONÇA, Henrique Vieira de *et al.* Microalgae-mediated bioremediation and valorization of cattle wastewater previously digested in a hybrid anaerobic reactor using a photobioreactor: Comparison between batch and continuous operation. **Science of The Total Environment**, 633, 1–11, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.157>.

MULBRY, Walter *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**, 99(17), 8137–8142, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.073>.

TAHER, D. M. Biodiesel de microalgas cultivadas em dejetos suíno biodigerido. 2013, p. 107. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

TECPAR – Instituto de Tecnologia do Paraná. **Manual de Biosistemas Integrados na Suinocultura**. Centro de Integração de Tecnologia do Paraná – CITPAR. Telus – Rede Paranaense de Projetos em Desenvolvimento Sustentável. Curitiba, Paraná – 2002. p 140.

WANG, L.; LI, Y.; CHEN, P.; MIN, M. CHEN, Y.; ZHU, J.; RUAN, R. R. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oilrich green microalgae *Chlorella* sp. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 2623- 2628, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.062>.

WOERTZ, I.; FEFFER, A.; LUNDQUIST, T.; NELSON, Y. Algae Grown on Dairy and Municipal Wastewater for Simultaneous Nutrient Removal and Lipid Production for Biofuel Feedstock. **Journal of Environmental Engineering**, v. 135, n. 11, p. 1115-1122, 2009.

YU, Jeong-Ung; KIM, Hyun-Woo. Enhanced Microalgal Growth and Effluent Quality in Tertiary Treatment of Livestock Wastewater Using a Sequencing Batch Reactor. **Water, Air, & Soil Pollution**, [S.L.], v. 228, n. 9, set. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-017-3547-6>.

Autores

Dhyogo Mileo Taher*, Beatriz Jacob-Furlan, Valeria Cristina Pereira Antezana, Laura Sebben Galarce, Rafael Xisto Vieira Filho, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano.

Universidade Federal do Paraná, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS), S/N Centro Politécnico, Setor de Tecnologia, 81531-990, Curitiba, Brasil.

* Autor para correspondência: dhyogomt@gmail.com

Imobilização de *Tetradesmus obliquus* em matriz de alginato para biorremediação de efluentes

Beatriz Jacob-Furlan, Paulo Alexandre Silveira da Silva, Gilvana Scoculi de Lira, Ihana Aguiar Severo, Rafael Silva Ribeiro Gonçalves, Lauber de Souza Martins, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c7>

Resumo

Devido ao crescimento da urbanização mundial e déficit no fornecimento de saneamento básico, ocorre um crescente volume de águas residuais e consequente contaminação das mesmas. Dessa forma, a fim de minimizar impactos ambientais negativos, a Organização das Nações Unidas (ONU) desenvolveu a Agenda 2030, ao que tange 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). O ODS número 6 aborda o tema saneamento básico e acesso à água potável. Neste cenário, as microalgas despertaram interesse nos mais variados contextos científicos, como a produção de energia renovável, obtenção de bioprodutos e biorremediação em função do tratamento de efluentes. À vista disso, considera-se imprescindível a realização de estudos que envolvam tecnologias inovadoras para o tratamento das águas residuárias, como por exemplo o processo de imobilização de microalgas. Dessa maneira, o proposto capítulo trata da imobilização da espécie de microalga *Tetradesmus obliquus* em matriz polimérica de alginato de sódio. De modo que, enfatiza e afirma a atual relevância das microalgas no cenário científico, ambiental e tecnológico, e seu potencial biorremediador.

Palavras-chave: tratamento de águas residuais, matriz polimérica, microalgas, sustentabilidade, tecnologias emergentes.

1. Introdução

No final do século XX as microalgas passaram a ser muito estudadas, devido a difusão do termo sustentabilidade, visto que os recursos naturais são finitos, e para isso, era necessário procurar meios renováveis para obtenção de bioprodutos, bioenergia e até mesmo realizar biorremediação (CONTANZA, 1994). Sendo assim, a comunidade científica se dedicou fielmente em desenvolver pesquisas a respeito das microalgas, desde a produção de biocombustíveis, extração de biomassa e biopolímeros e produção de hidrogênio (TAHER, 2013).

As microalgas são organismos unicelulares, autotróficos ou heterotróficos e de fácil reprodução que vêm apresentando grande destaque no universo científico (FURLAN *et al.*, 2020). As microalgas podem ser cultivadas em ambientes abertos ou reatores fechados com regime alimentar à base de compostos químicos com uma dieta que contempla carbonatos, fosfatos, nitratos e até mesmo alguns gases como CO₂, compostos estes que podem ser classificados em orgânicos ou inorgânicos. Esses organismos são os responsáveis pela maior parte da produção de oxigênio terrestre, e estão presentes em oceanos, lagos e lagoas naturais ao redor do mundo (LEHMUSKERO, 2018).

Nesse contexto, as microalgas exigem certa cautela em seus cultivos, pois caso sejam muito expostas podem levar a contaminação (ANTEZANA *et al.*, 2020). Partindo desse pressuposto, e sabendo que as microalgas possuem um potencial já explorado na biorremediação (FURLAN, *et al.*, 2020), uma nova gama de possibilidades científicas se abre ao tocante da imobilização celular em matrizes poliméricas para tratamento de efluentes.

A partir de uma técnica de aprisionamento celular, as microalgas podem ser retidas em uma membrana polimérica, que pode ser permeável, possibilitando a biorremediação de um efluente por meio da absorção dos nutrientes presentes na solução (MUNIZ, 2018). Visto que a microalga pode se alimentar das fontes de carbonatos, nitratos e fosfatos, e estas cargas estão presentes nos efluentes, isso acaba por favorecer o cenário da biorremediação com uso da imobilização de microalgas (GIESE, 2016).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Educação, Ciência e Cultura (UNESCO, 2017), o aumento da população mundial, favorece

de modo direto o aumento de águas residuais, sendo estas por sua vez, efluentes nobres em matéria orgânica, portanto, passível de que a microalga imobilizada trate o meio externo e se alimentando dentro de uma matriz. Dessa forma, promovendo a biorremediação em caráter de tratamento secundário.

Desse modo, o objetivo deste trabalho consiste em imobilizar microalgas em matriz polimérica de alginato de sódio, a fim de validar seu potencial em se manter no interior da micela polimérica, delineando assim um paralelo para tratamento de efluentes por biorremediação.

2. Microalgas – Visão geral

Microalgas são consideradas microrganismos unicelulares de rápida reprodução, podendo ser caracterizadas biologicamente como autotróficas ou heterotróficas (FURLAN et. al., 2020). Elas podem ser cultivadas em diversas formas, desde tanques abertos, lagos e lagoas como se encontra na natureza, bem como de forma industrial, por meio do uso de fotobiorreatores (ARUN *et al.*, 2021), sendo escalonada a partir de cultivos manuais feitos em escala laboratorial.

As microalgas são as responsáveis pela maior parte da fotossíntese no planeta, por serem encontradas em vastidão no meio ambiente (LEHMUSKERO, 2018). Ademais, possuem a capacidade de promoverem biorremediação, limpando o ar atmosférico por meio da fotossíntese, o que promove além de seu crescimento, a oxigenação do ambiente (SCHMITZ *et al.*, 2015; DERNER *et al.*, 2006). Para seu crescimento, as microalgas possuem como fonte alimentar, carbonos de origem orgânica e inorgânica, além de fontes de nitrato e fosfato, estas que são permitidas pelos meios que elas estão imersas (BOROWITZKA, 2018).

No Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Energia Autossustentável (NPDEAS), da Universidade Federal do Paraná (UFPR), o cultivo de microalgas acontece de forma laboratorial, piloto e industrial. Contando com o suporte de um laboratório de biotecnologia focado em produzir inóculos de microalga em pequena escala, escalona-se cultivos até chegar à alimentação à escala piloto e industrial, por meio de *airlifts* e fotobiorreatores tubulares compactos (FBRs). Os FBRs do tipo *airlifts* comportam cerca de 44 L em toda sua extensão, enquanto

os FBRs, similares à escala industrial, chegam a comportar até 10000 L, como podemos observar na Figura 1.

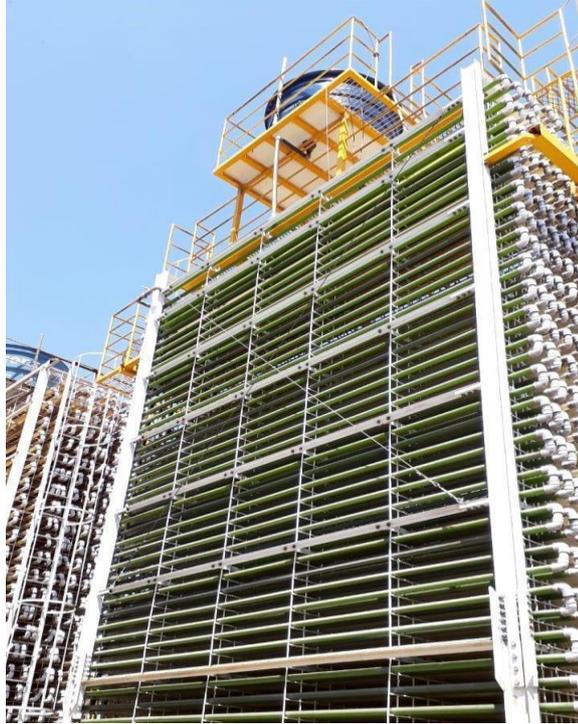


Figura 1. FBR tubular compacto construído no NPDEAS na UFPR.

2.1. Meios de cultivo

As microalgas podem ser cultivadas de diversas formas em laboratório, desde que o básico seja fornecido (CHISTI, 2007). O cultivo pode ser classificado em fotoautotrófico, fotoheterotrófico, heterotrófico e mixotrófico, de acordo com a origem do carbono e presença de fonte luminosa. Em cultivos fotoautotróficos, é utilizado carbono de origem orgânica e luz como fonte de energia, caso o carbono seja de origem inorgânica, o cultivo é chamado de fotoheterotrófico. Já nos cultivos heterotróficos não há a presença de luz, toda energia necessária para o crescimento é retirada da fonte de carbono de origem orgânica. Enquanto nos cultivos mixotróficos o meio é suplementado com carbono de origem orgânica e inorgânica, e submetido a presença de energia luminosa (CARDOSO, 2011).

Os cultivos em sistema semi-contínuo também são utilizados, onde as microalgas ora têm acesso à luz, ora são privadas desse contato. No fim do

cultivo, a fonte de iluminação acaba por fornecer maiores quantidades de densidade, o que promove um maior valor agregado à produção microalgal (ANGELO, 2014).

Para alimentação do cultivo de microalgas, meios sintéticos são produzidos, com compostos químicos derivados de sais orgânicos e inorgânicos. Um dos principais meios utilizados é o meio sintético CHU (1942), dentro das concentrações conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Composição do meio CHU com concentrações dos sais químicos.

Componente	Fórmula	Concentração final (g.L ⁻¹)
Nitrato de sódio	NaNO ₃	0,25
Cloreto de cálcio di-hidratado	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,025
Sulfato de magnésio hepta-hidratado	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,075
Fosfato de potássio dibásico	KH ₂ PO ₄	0,075
Fosfato de potássio monobásico	K ₂ HPO ₄	0,175
Cloreto de sódio	NaCl	0,025
EDTA (Ácido etilenodiamino tetra- acético)	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈	0,05
Hidróxido de sódio	KOH	0,031
Sulfato ferroso hepta-hidratado	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,005
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	0,01142
Sulfato de zinco hepta-hidratado	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,82×10 ⁻⁵
Cloreto de manganês tetra-hidratado	MnCl ₂ .4H ₂ O	1,44×10 ⁻⁵
Molibdato de sódio di-hidratado	NaMoO ₄ .2H ₂ O	7,1×10 ⁻⁶
Sulfato de cobre penta-hidratado	CuSO ₄ .5H ₂ O	1,57×10 ⁻⁵
Nitrato de cobalto hexa-hidratado	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	4,9×10 ⁻⁶

FONTE: Adaptado de SANTOS, (2016).

2.2. Águas residuais

Os recursos hídricos possuem diversas características, e são consideradas águas residuais quando afetadas via contaminantes derivados de esgotos domésticos ou descartes industriais indevidos que podem conter

microrganismos patogênicos e/ou substâncias tóxicas. Dessa forma, podem desencadear doenças, intoxicações e infecções (SILVA, 2011).

Conforme mencionado o expressivo aumento das águas residuárias se evidencia também a baixa cobertura e captação de coleta de esgoto, onde diversas regiões não possuem serviços de abastecimento e saneamento básico, o que faz com que a população afetada acabe descartado seus efluentes em áreas indevidas e conseqüentemente afeta drasticamente e contamina os recursos hídricos, lençóis freáticos, e até mesmo os subterrâneos.

Nesse contexto, foi instituída uma agenda denominada Agenda 2030, oriunda da ONU, que possui cerca de 169 metas. O plano majoritário que compreende esta ação é um plano de ação para o planeta, para as pessoas e para a prosperidade. Desde 2015, existe dentro da Agenda 2030, 17 ODS, tornando mais relevante a busca por métodos tecnológicos que priorizem o tratamento das águas residuais, e efluentes agroindustriais, promovendo também a diminuição de descartes indevidos de efluentes e alcance universal de água tratada à toda população.

2.3. Tratamento de águas residuais

Para o tratamento de águas residuais existem normas, que segundo a Agência Nacional de Águas (ANA), durante o ano de 2017, cerca de 43% apenas de todo o esgoto no Brasil foi coletado e tratado. Enquanto 39% da carga orgânica era removida pelas quase 3 mil estações de tratamento espalhadas em território nacional. O exigido pela resolução CONAMA 430, é que a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) seja de no mínimo 60%.

As estações de tratamento de esgoto (ETE) não promovem o tratamento das águas residuais. A estação responsável é a estação de tratamento de águas residuais (ETAR), onde por meio de processos físicos, químicos e biológicos, de acordo com o grau de contaminação e de purificação a ser alçado, efetuam o procedimento de tratamento (OLIVEIRA, 2014). Existem três etapas que compõem o tratamento básico das águas residuais, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Três etapas que integram o tratamento básico de águas residuais.

Etapas	Descrição
Tratamento primário	Consiste em processos físico-químicos. Enfoque principal em remover contaminantes sólidos (de origem orgânica e inorgânica) presentes na água;
Tratamento secundário	Ocorre por meio de métodos biológicos. Remove contaminantes que não foram removidos apenas com o tratamento primário;
Tratamento terciário	Utilização de processos biológicos para a separação dos microrganismos mais resistentes que não foram removidos nas etapas anteriores.

Adaptado de OPERSAN (2015); ETA (2015).

3. Imobilização celular de microalgas

A imobilização é uma técnica utilizada por meio do aprisionamento celular no interior de uma matriz, em sua maioria polimérica, por procedimento de interações físico-químicas por meio de ciência dos materiais (MUNIZ, 2018). A fixação do material dentro da matriz pode ser aplicada para promoção do tratamento de efluentes, pois retém os sólidos e elimina as etapas de sedimentação. Assim, é possível diminuir o custo do processo e aumentar a eficiência dos tratamentos, visto que passando pelas etapas primárias e secundárias, estas são incapazes de reter os rejeitos existentes (GIESE, 2015).

Além disso, as microalgas estão cada vez mais cotadas por promoverem biorremediação ambiental, podendo ser utilizadas no tratamento de águas residuais (STURM & LAMER, 2011). Diante da sua capacidade de conversão energética e tratamento, (NAGARAJAN *et al.*, 2020) o cultivo com microalgas para este fim é extremamente vantajoso, principalmente por promover integração com algumas formas de tratamentos (ROOSTAEI & ZHANG, 2017), além de possuir uma implementação de baixo custo e ser energeticamente viável decorrente do uso da energia solar para o crescimento celular (ACIÉN FERNÁNDEZ *et al.*, 2018), e pela remoção dos compostos presentes nas águas

residuais, com premissa de remoção de alguns microrganismos (NAGARAJAN *et al.*, 2019). O reuso das cápsulas é um ponto de relevância, visto que se a matriz utilizada tiver características de um material inerte, ela apresentará resistência mecânica (MUNIZ, 2018).

4. Imobilização experimental

A partir do cultivo da microalga *Tetrademus obliquus*, a imobilização experimental foi realizada, a fim de validar um protocolo existente para analisar o comportamento da micela e quantificar os reagentes necessários de acordo com a batelada de experimento.

A primeira imobilização tomou forma, conforme apresentado na Figura 2.



Figura 2. Microalgas encapsuladas sob teste piloto.

Após as microalgas terem sido imobilizadas satisfatoriamente, conforme Figura 2, foram inseridas em meio CHU (Figura 3) a fim de acompanhar seu desenvolvimento, resistência e escoamento para o meio externo.



Figura 3. Microalgas imobilizadas inseridas em meio CHU.

A imobilização foi resistente por cerca de 45 dias, sem que houvesse declínio do cultivo. Elas permaneceram inativas em crescimento, conforme mostra a Figura 4, após serem analisadas por microscópio.

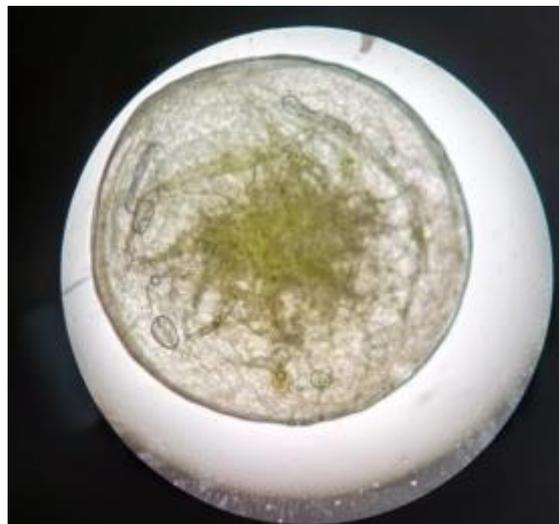


Figura 4. Micela imobilizada de microalga vista em microscópio.

Outro ponto de interesse é que não houve rompimento de microalga para o meio externo e a cápsula também não se desfez durante o período.

Comprovando assim, que ela pode ser armazenada por um longo período até ser utilizada, em condições ambientes, vide Figura 5.

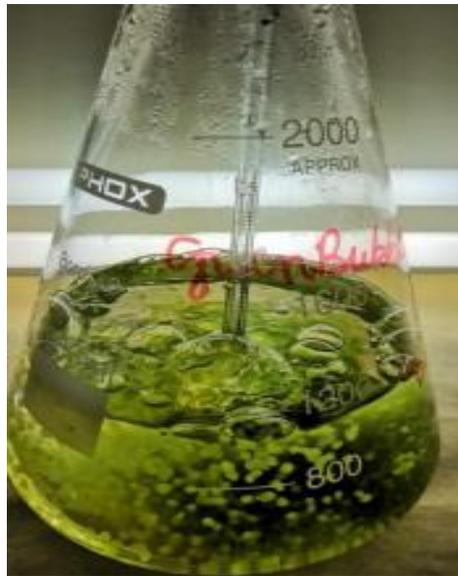


Figura 5. Reator com microalgas imobilizadas em meio CHU para validação experimental.

5. Considerações finais

Desse modo, pode-se concluir que a imobilização de microalgas em matriz polimérica de alginato de sódio, é efetiva, além de que ela é passível de ser armazenada por cerca de 1 mês em solução aquosa.

Uma dificuldade encontrada é a solubilização da matriz, permitindo um gargalo para trabalhos futuros. Além disso, é favorável o cenário de pesquisa para esse ambiente, visto que as algas imobilizadas possuem maior resistência enquanto equiparadas a seu estado inicial dispersas em solução aquosa.

Certo é que, conforme os experimentos demonstram, a matriz fornece abertura suficiente para que a microalga se alimente das fontes externas presentes no meio, de tal forma que isso pode ser empregado em biorremediação de efluentes.

Para trabalhos futuros, é interessante explorar análises básicas diárias de cultivos imobilizados, e com o potencial quantitativo e qualitativo de biorremediação a partir de níveis de tratamento de fosfatos e nitratos que a alga

imobilizada pode retirar do meio externo, a fim de demonstrar que ela promove a biorremediação no efluente.

6. Agradecimentos

A realização dessa pesquisa se deve graças ao suporte técnico do NPDEAS. Além disso, agradecemos aos Programas de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais (PIPE) e Engenharia Mecânica– (PGMEC), ao Departamento de Química (UFPR) e ao Programa de Recursos Humanos da ANP - PRH 12.1, gestão FINEP. Agradecimentos também ao CNPq pelo financiamento das bolsas de Iniciação Científica e ao Projeto de Pesquisa 308460/2020-0.

7. Referências

ACIÉN Fernández, F.G., Gómez-Serrano, C. & Fernández-Sevilla, J.M. (2018). Recovery of Nutrients From Wastewaters Using Microalgae. *Frontiers in Sustainable Food Systems* *Frontiers Media S.A.* 2, 59. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fsufs.2018.00059/full>. Acesso em 28 de Julho de 2021.

ANA. Agência Nacional de Águas. Atlas Esgotos revela mais de 110 mil km de rios com comprometimento da qualidade da água por carga orgânica. 2017. Disponível em < <https://www.ana.gov.br/noticias/atlas-esgotos-revela-mais-de110-mil-km-de-rios-com-comprometimento-da-qualidade-da-agua-por-cargaorganica>>. Acesso em: 30 de janeiro de 2021.

ANGELO, E. A.; ANDRADE, D, S; FILHO, A, C. Cultivo não-fotoautotrófico de microalgas: uma visão geral. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 125-136, 2014.

ANTEZANA, V. C. P., FURLAN, B. J., ZATTA, P. H. S., MARTINS, L. S., MARIANO, A. B. ESTUDO COMPARATIVO DO CRESCIMENTO DE MICROALGAS TETRADESMUS OBLIQUUS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO. In: Anais do I Congresso Virtual de Estudantes e Profissionais de Engenharia Ambiental e Sanitária. Anais. Goiânia (GO) Ambiente Virtual, 2020. DOI: 10.29327/ConVEPEAS.269630 Acesso em: 11/04/2021

ARUN, J.*et al.* Technical insights into the production of green fuel from CO₂ sequestered algal biomass: A conceptual review on green energy. **Science of The Total Environment**, v. 755, n. 142636, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142636>.

BOROWITZKA, M. A. Biology of Microalgae. In: LEVINE, I. A.; FLEURENCE, J. (Ed.). **Microalgae Health and Disease Prevention**. Amsterdam: Academic Press, Elsevier, 2018. p. 23–72.

CACURO, Thiago Aguiar. Compósitos de Alginato como Material Inteligente, Modulação de Solubilidade e Objeto de Ensino. 2019. 217f. Tese de Doutorado – Sorocaba: Universidade Federal de São Carlos, 2019.

CARDOSO, Aderlânio da Silva. O uso de microalgas para a obtenção de biocombustíveis. In **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, n., p.542-549, 29 ago. 2011.

CHISTI, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances Elsevier*. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>.

Costanza, R. Economia ecológica: uma agenda de pesquisa. *In: May, P. H. e Serôa da Motta, R. (Orgs.). Valorando a natureza: análise econômica para o desenvolvimento sustentável*. Editora Campus. 1994.

CHU, S.P. The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. **Journal of Ecology**, v. 30, p. 284-325, 1942. <https://doi.org/10.2307/2256574>.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S.M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 6, p. 1959 -1967, 2006.

FURLAN, Beatriz Jacob; ZATTA, Pedro Henrique Siqueira; ANTENAZA, Valeria Cristina Pereira; MARTINS, Lauber de Souza; MARIANO, André Bellin., 2021. Estudo do crescimento de microalgas em meio de cultivo CHU e dejetos suínos. *Meio Ambiente, Sustentabilidade e Tecnologia*, Volume 6. 1ed. Belo Horizonte, Minas Gerais.: Editora Poisson, v. 6, p. 204-211. <http://dx.doi.org/10.36229/978-65-5866-094-1.CAP.24>.

GIESE, E.C., 2015. Potencial Biotecnológico do Uso de Microorganismos Imobilizados em Gel de Alginato de Cálcio. **SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL - CETEM**. ISBN: 978-85-8261-029-9

LEHMUSKERO, A., Skogen Chauton, M., Boström, T. Light and photosynthetic microalgae: a review of cellular- and molecular-scale optical processes, **Progress in Oceanography**. 168 (2018) 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.09.002>.

MALINOSKI, L.; MARANHO, L. T. Imobilização de consórcio de bactérias extraídas da rizosfera de *Echinochloa polystachya* (KUNTH) Hitchc., Poaceae, e seu potencial para a degradação de petróleo. **Brazilian Journal of Development**, [S.L.], v. 6, n. 7, p. 50373-50395, 2020. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n7-623>.

MUNIZ, C. B. DE O. Avaliação Da Influência De Quitosana Na Porosidade E Resistência De Microesferas De Alginato/Quitosana Para Imobilização De Microrganismos E Posterior Uso No Tratamento De Águas Residuárias. UFCG, p. 47, 2018.

NAGARAJAN, D.; Chang, J.S.; Lee, D.J. Pretreatment of Microalgal Biomass for Efficient Biohydrogen Production-Recent Insights and Future Perspectives. **Bioresource Technology** 2020, 302, 122871. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122871>.

NAGARAJAN, D., Lee, D.-J., Chang, J.-S., 2019. Recent insights into consolidated bioprocessing for lignocellulosic biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy** 44 (28), 14362–14379. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.03.066>.

OLIVEIRA, T. Imobilização De Microalgas *Chlorella* sp. Em Matriz De Alginato. UEPB, p. 36, 2014.

ONU. Organização das Nações Unidas. Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável. 2015. Disponível em. Acesso em 28 de janeiro de 2021.

OPERSAN. OPERSAN Soluções Ambientais. Níveis de Tratamentos de Efluentes. 2015. Disponível em. Acesso em 15 de março de 2021.

PAWAR, S. N. Chemical Modification of Alginate. In. Jayachandran Venkatesan; Sukumaran Anil; Se-Kwon Kim (ed.). **Seaweed Polysaccharides**. [S.L.] Elsevier Inc., 2017.

PAWAR, S. N.; EDGAR, K. J. Chemical Modification of Alginates in Organic Solvent Systems. *Biomacromolecules*, v. 12, n. 11, p. 4095–4103, 14 nov. 2011b.

ROOSTAEI, J., Zhang, Y., 2017. Spatially explicit life cycle assessment: opportunities and challenges of wastewater-based algal biofuels in the United States. **Algal Research**. 24 (B), 395–402.

SANTOS, B. Estratégias para aumentar a produtividade de biomassa de microalgas com carbono orgânico. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2016.

SCHLEE, T.; MADAU, M.; ROESSNER, D. Synthesis enhancements for generating highly soluble tetrabutylammonium alginates in organic solvents. **Carbohydrate Polymers**, v. 114, p. 493–499, 2014.

SCHLEE, T.; MADAU, M.; ROESSNER, D. Two competing reactions of tetrabutylammonium alginate in organic solvents: Amidation versus γ -lactone synthesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 244–251, 2016.

SCHMITZ, R., DECESARO, A., SANTETI, G., REINEHR, C. O., THOMÉ, A., COLLA, L. M. Lipídios microalgais como biossurfactantes em processo de biorremediação de diesel e biodiesel em solo. **Ciência & Engenharia**, v. 24, n. 1, p. 63-70, 2015.

SILVA, M. C. C. DE P. TRATAMENTO TERCIÁRIO DE EFLUENTE SECUNDÁRIO, USANDO A MICROALGA *Chlorella* sp. IMOBILIZADA EM MATRIZ DE ALGINATO DE CÁLCIO. Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia) - Campina Grande: Universidade Estadual da Paraíba, 2011.

SOTAMINGA, Francisco Paul. Funcionalização de alginato e de seus blocos homopoliméricos para conjugação com compostos de interesse biotecnológico. Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-graduação em Engenharia de Biorprocessos e Biotecnologia) - Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2020.

STURM, B. S. M., Lamer, S. L., 2011. An energy evaluation of coupling nutrient removal from wastewater with algal biomass production. **Applied Energy** 88,3499–3506.

TAHER, D. M. Biodiesel de microalgas cultivadas em dejetos suínos biodigeridos. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2013.

UNESCO. Relatório Mundial das Nações Unidas Sobre Desenvolvimento dos Recursos Hídricos 2017. p. 8, 2017.

Autores

Beatriz Jacob-Furlan, Paulo Alexandre Silveira da Silva, Gilvana Scoculi de Lira, Ihana Aguiar Severo, Rafael Silva Ribeiro Gonçalves, Lauber de Souza Martins, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua Cel. Francisco Heráclito dos Santos, nº 100 - Centro Politécnico – Prédio da Administração – 2º andar, Caixa Postal 19011, CEP 81531-980, Curitiba – Paraná, Brasil.

* Autor para correspondência: beatrizfurlan@ufpr.br

Matrizes poliméricas para imobilização de microalgas aplicadas ao tratamento de efluentes: Uma análise de prospecção tecnológica de patentes

Paulo Alexandre Silveira da Silva, Beatriz Jacob-Furlan, Rafael Silva Ribeiro Gonçalves, Pedro Henrique Siqueira Zatta, Gilvana Scoculi de Lira, Ihana Aguiar Severo, André Bellin Mariano

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c8>

Resumo

A utilização de microalgas para o tratamento de efluentes vem obtendo destaque nas últimas décadas. Dessa maneira, novas tecnologias e processos se mostram satisfatórios no que concerne a eficiência de biorremediação. Uma das opções utilizadas está baseada na imobilização de microalgas em matrizes poliméricas, a qual visa otimizar as características intrínsecas desses microrganismos para o tratamento de águas residuárias. Portanto, o objetivo do presente capítulo consiste em analisar o estado da arte do uso de matrizes poliméricas para a imobilização de microalgas aplicadas a biorremediação de efluentes por meio da prospecção tecnológica de patentes. O estudo está centrado na busca por patentes em diversas bases de dados de acesso aberto, utilizando códigos booleanos combinados com palavras-chave específicas que contemplam o processo em estudo. O critério adotado está baseado no sistema de classificação internacional CPC (*Cooperative Patent Classification*). À vista disso, foi analisada a evolução histórica da atividade de patenteamento, o número de patentes depositadas por países e os principais cessionários. Muitos trabalhos científicos são publicados frequentemente na literatura sobre essa temática, no entanto, estudos prospectivos são pouco investigados, o que pode fornecer informações valiosas a respeito da maturidade tecnológica de um dado processo.

Palavras-chave: algas, biopolímeros, imobilização celular, inovação.

1. Introdução

As microalgas têm sido amplamente aplicadas para diversos fins biotecnológicos em detrimento do impacto ambiental oriundo das atividades humanas nos últimos anos. Por essa razão, houve a necessidade de buscar formas de tratamento e mitigação dos danos causados aos ecossistemas, principalmente aquáticos. A biorremediação tem sido utilizada para este propósito, a qual é definida como o uso de microrganismos no tratamento e transformação de contaminantes de uma matriz ambiental; entretanto, quando há o uso específico de microalgas, este processo é denominado de ficorremediação (EMPARAN *et al.*, 2019).

O processo de ficorremediação tem o objetivo de remover ou tratar os contaminantes, consumindo-os como nutrientes para produção de biomassa, e de degradar ou transformar os compostos químicos tóxicos em compostos inertes (SARKAR; DEY, 2021).

Nos últimos anos, com o aumento da população e o uso descontrolado dos recursos naturais, estão surgindo muitos problemas relacionados à qualidade da água e saneamento básico. O tratamento de efluentes é realizado pelas estações de tratamento, e a sua purificação consiste basicamente em três etapas: tratamento primário, secundário e terciário (ABDEL-RAOUF *et al.*, 2012).

O tratamento primário é responsável pela retirada dos sólidos suspensos, por meio de processos físico-químicos, como floculação e decantação, conseguindo remover cerca de 40% de todos os compostos orgânicos dos efluentes. O tratamento secundário utiliza principalmente os processos biológicos, para remover todos os compostos orgânicos e a maior parte possível dos compostos inorgânicos. Quando não for possível remover todas as impurezas presentes no efluente, é então necessário a realização do tratamento terciário, através de processos químicos ou biológicos, é responsável por remover substâncias específicas presentes na água (VON SPERLING, 2007).

As águas residuárias que precisam ser tratadas, são constituídas principalmente por compostos carbonáceos orgânicos (determinados pela demanda bioquímica de oxigênio – DBO) e compostos inorgânicos, como fosfatos, amônio, bicarbonato, sódio, dentre outros (ABDEL-RAOUF *et al.* 2012). Quando a matéria orgânica é o principal poluente, preferencialmente, deve-se

utilizar processos biológicos para o tratamento, pois são mais simples, eficientes e com um custo relativamente mais baixo quando comparado aos demais processos (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

Como o tratamento de águas residuais é imprescindível, a busca por novas tecnologias de tratamento é urgente. A imobilização celular é um processo que consiste em aprisionar ou fixar células ou enzimas em uma matriz através de interações físico-químicas. A utilização de biomassa imobilizada para tratamento de efluentes está sendo cada vez mais estudada (CHEIRSILP *et al.*, 2017; XIE *et al.*, 2018; CAO *et al.*, 2020; KUBE *et al.*, 2021), pois a técnica tende a aprimorar as características intrínsecas dos microrganismos, como por exemplo, a remoção de DBO, retenção de sólidos, além de eliminar a etapa de sedimentação. Logo, o sistema de células imobilizadas é capaz de aumentar a eficiência e reduzir os custos dos processos biológicos (GIESE, 2015).

Considerando estes aspectos, os processos baseados em microalgas imobilizadas são alvo de inúmeras investigações envolvendo questões de sustentabilidade e econometria, as quais evidenciam as tendências, problemas que necessitam de soluções inovadoras, o nível de maturidade tecnológica, além de auxiliar na tomada de decisão dos investidores (TABERNERO *et al.*, 2013). Essas pesquisas geralmente são refletidas em muitas publicações de artigos científicos, relatórios técnicos e patentes. No entanto, os documentos de patentes contêm uma riqueza incomparável de informações com grande relevância industrial. As patentes representam as inovações em um país ou organização e são um acordo entre o inventor e o governo ou agência. A utilização desses documentos é importante para mapear os níveis de desenvolvimento de uma área específica para fins industriais. A título de exemplificação, a análise de patentes ajuda a determinar a novidade e suas invenções, tanto na propriedade intelectual, quanto na competitividade tecnológica, ao determinar os pontos fortes e fracos do concorrente, bem como na estimativa de sua evolução ou declínio em um determinado período (WIPO, 2016).

Portanto, o objetivo do presente capítulo consiste em analisar o estado da arte do uso de matrizes poliméricas para a imobilização de microalgas aplicadas a biorremediação de efluentes por meio da prospecção tecnológica de patentes. Até onde se sabe, a análise de documentos de patentes sobre a

temática proposta neste trabalho raramente foi discutida na literatura atualmente disponível.

2. Principais matrizes utilizadas na imobilização celular: Uma breve revisão

A matriz de imobilização, comumente chamada de suporte, deve possuir algumas características básicas dependendo da sua aplicação, sendo as principais: Não ser tóxica para as células, resistente a ataques químicos e a degradação biológica, alta capacidade de retenção celular, apresentar maleabilidade a solicitações mecânicas (tensão de cisalhamento, compressão, pressão interna de gases, entre outros), e principalmente, permitir a difusividade de substratos e produtos. Existem três categorias principais quanto a origem do material que pode ser utilizado como suporte, podendo ser definidas como: (i) materiais poliméricos naturais (quitosana, alginato e celulose); (ii) polímeros sintéticos (poliacrilamida, poliestireno e poliuretano); e (iii) materiais inorgânicos (alumina, zircônia e sílica) (SCHMIDELL *et al.*, 2001). Entretanto, os polímeros naturais baseados em quitosana e alginato são enfatizados neste estudo, uma vez que eles são uma classe de suportes amplamente empregados em procedimentos de imobilização celular em função da sua diversidade, custo relativamente baixo e facilidade na degradação, não causando danos ambientais.

2.1. Quitosana

A quitosana é um copolímero biodegradável derivado da quitina, e que apresenta propriedades termoplásticas. É amplamente utilizada em encapsulamentos de microrganismos ou como carreadores de fármacos. Diferentes métodos para formação de esferas de quitosana já foram descritos na literatura, porém o mais empregado é o método de gelificação iônica. O processo consiste basicamente no gotejamento de uma solução ácida de quitosana, em um recipiente contendo uma segunda solução rica em íons monovalentes, como o Ca^+ e Na^+ (SILVA *et al.* 2011).

A quitosana também pode assumir o papel de polímero de revestimento, com a finalidade de adicionar propriedades mecânicas, como resistência, melhoramento da ligação entre matrizes e suportes, além de poder ser modificada para sua forma de nanoquitosana, a qual possui nanoporos que

aumentam a superfície de contato e favorecem reações químicas e biológicas (VIJAYALAKSHMI *et al.*, 2016; MALINOSKI e MARANHO, 2020).

2.2. Alginato

O alginato é um biopolímero proveniente da parede celular das algas marrons, geralmente encontrado comercialmente como alginato de cálcio e alginato de sódio. Capaz de formar estruturas coloidais, o composto tem despertado interesse do setor tecnológico. O alginato já vem sendo utilizado na saúde e na alimentação, principalmente na formulação de cápsulas farmacêuticas e alimentos, atuando como espessante e estabilizante. O uso do biopolímero como agente de encapsulamento celular apresenta muitas vantagens. O composto forma uma matriz biodegradável, não tóxica, e permite a difusão de nutrientes e gases pela matriz, mantendo a viabilidade dos microrganismos que ali estão retidos (SILVA, 2011; VIJAYALAKSHMI *et al.*, 2016).

3. Metodologia

Com o propósito de compreender o panorama da propriedade intelectual no escopo deste estudo, foi realizada uma análise de patentes utilizando a plataforma de busca Espacenet, desenvolvida pelo Escritório Europeu de Patentes (*European Patent Office*, EPO). Essa base de dados contempla mais de 120 milhões de publicações de patentes registradas no mundo todo, fornecendo informações de atividades de invenção em um determinado período de tempo. O Espacenet agrupa documentos internacionais em famílias, com base na coleção de dados do Tratado de Cooperação de Patentes (*Patent Cooperation Treaty*, PCT), definido pela Organização Mundial de Propriedade Intelectual (*World Intellectual Property Organization*, WIPO).

A busca de patentes foi realizada em agosto de 2021, selecionando a opção de pesquisa avançada. O método consistiu em um procedimento de três etapas: (1) busca usando os códigos de classificação do CPC (*Cooperative Patent Classification*), baseado em uma organização categórica de seções (<https://www.cooperativepatentclassification.org/index>). Tais códigos são padronizados para classificar as patentes de acordo com diferentes áreas tecnológicas, proporcionando um alto nível de detalhamento nas pesquisas com

resultados mais precisos. O montante de códigos selecionados para o estudo proposto é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Códigos para prospecção de patentes.

Códigos	Descrição
C12N1/12	Unicellular algae; Culture media therefor (as new plants A01H 13/00)
C02F2003/001	Using granular carriers or supports for the microorganisms
C02F3/108	Immobilising gels, polymers or the like
C12N5/0012	Cell encapsulation
C12N11/04	Entrapped within the carrier, e.g. gel or hollow fibres
C12N11/06	Attached to the carrier via a bridging agent
C12N11/08	The carrier being a synthetic polymer
C12N11/10	The carrier being a carbohydrate
C12N11/14	Enzymes or microbial cells immobilised on or in an inorganic carrier

Posteriormente, (2) usou-se palavras-chave e suas variantes, incluindo os termos em inglês "*microalgae*", "*immobilization*", "*cell immobilization*" e "*bioremediation*". O propósito dessa etapa consiste em refinar a pesquisa, bem como, reduzir o conjunto de dados para documentos mais específicos. O truncamento "+" das palavras foi realizado a fim de recuperar diferentes variações relevantes vinculadas a um dado termo, além da combinação dos operadores booleanos "AND", "OR" e "NOT".

Devido a abrangência do tema, (3) os documentos resultantes da pesquisa foram compactados e exportados para o *software Microsoft Office*

Excel 2019 para realização de posterior análise mais detalhada. Os dados foram expostos de maneira visual, considerando indicadores como ano de publicação, país de origem e inventores.

Ao final da realização da pesquisa foi possível gerar gráficos e tabelas com os documentos de patentes encontradas nos bancos de dados a partir da metodologia descrita acima.

4. Resultados e discussão

Considerando a combinação entre os códigos C12N1/12 e C12N11/04 e utilizando o operador booleano “AND”, esta busca foi a que melhor atendeu o objetivo proposto neste estudo, contemplando 25 documentos de patentes pertencentes a 15 famílias, as quais correspondem aos critérios de pesquisa, como mostrado na Figura 1. O número de famílias pode englobar diversas publicações de uma mesma patente em diferentes países e idiomas.

C12N1/12	C02F2003/001	C02F3/108	C12N5/0012	C12N11/04	C12N11/06	C12N11/08	C12N11/10	C12N11/14	Patentes
X									3186
	X								1404
		X							627
			X						279
				X					1364
					X				321
						X			2044
							X		1546
								X	2068
X	X								3
X		X							1
X			X						0
X					X				0
X				X					15
X				X		X			4
X				X		-			11
X								X	10

Figura 1. Combinações entre os códigos de classificação de patentes.

Conforme mostrado na Figura 2, com base no número de documentos acumulados, pode-se observar que existe uma tendência no aumento de depósito de patentes na área estudada, com poucas concessões a longo dos últimos 10 anos. A partir dessa observação, é possível constatar que existem

poucas patentes atuais sobre imobilização de microalgas em matrizes poliméricas para o tratamento de efluentes. Além disso, existe uma tendência e necessidade de depósitos de novos produtos e processos inventivos.

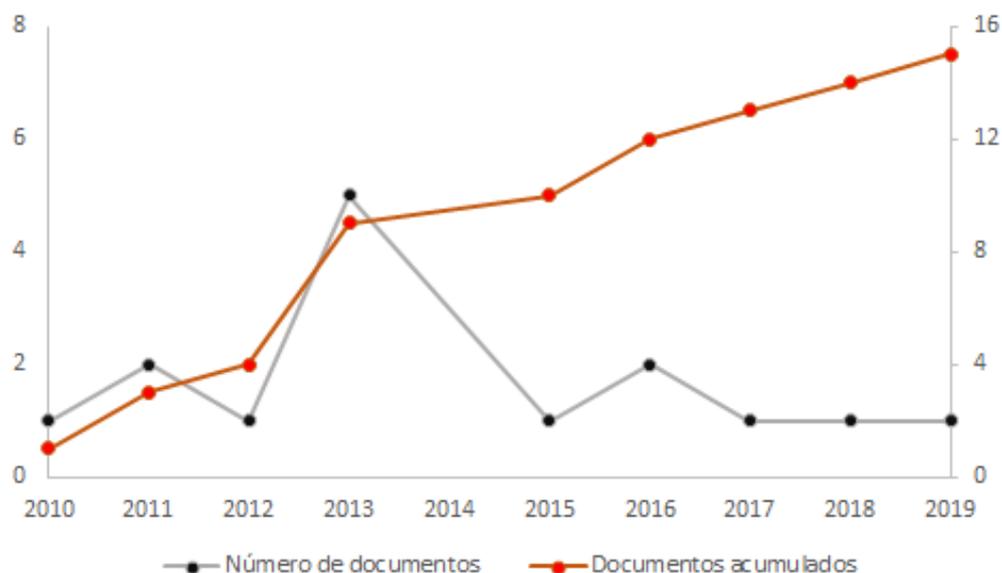


Figura 2. Evolução do depósito de patentes nos últimos anos.

Um fator considerável na busca por depósito de patentes é o critério CPC, que é apontada como base para avaliação do desempenho tecnológico e estatísticas sobre propriedade intelectual. Dessa maneira, a Figura 3 representa o gráfico referente ao número de patentes depositadas por países. É possível notar que diante da quantidade de patentes analisadas, a disputa está entre China e Estados Unidos. Isso deve-se ao fato de que estes países estão frequentemente presentes no mercado tecnológico atual quando comparados aos demais países.

Embora exista um número consideravelmente baixo de patentes na área em estudo, nota-se um grande interesse da indústria em inovar nesse campo, visto que o setor industrial, em geral, apresenta lidera o maior número de patentes concedidas, conforme apresentado na Figura 4.

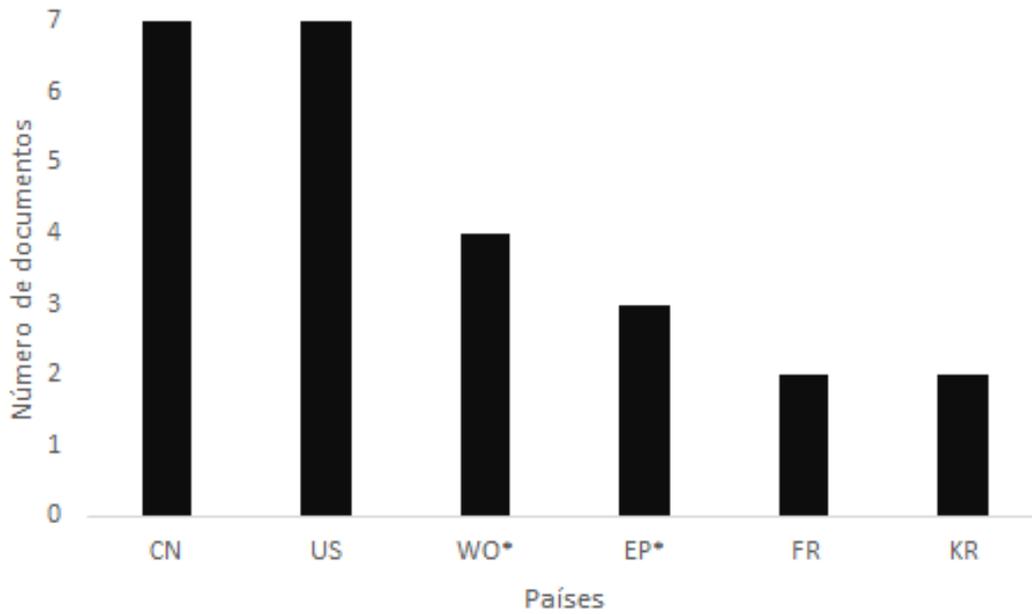


Figura 3. Número de documentos por país. Nota: *WO se refere aos pedidos de patentes pedidos pela Organização Mundial da Propriedade Intelectual (OMPI/WIPO).

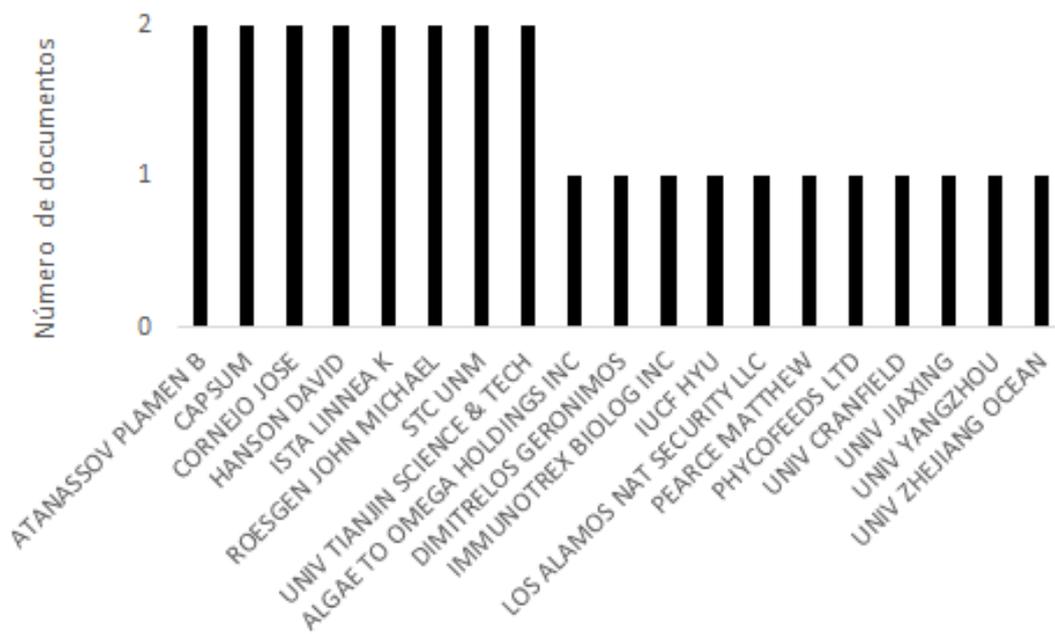


Figura 4. Principais depositantes.

Após um estudo individual de cada patente, foram selecionadas àquelas que apresentam maior aderência ao tema. Nesse sentido, a patente representada pelo código EP3104684A1, pertencente a empresa Phycofeeds LTD, refere-se à utilização de alginato ou pectina como uma matriz de imobilização. O texto apresenta o processo de execução da imobilização das microalgas. Além disso, ele descreve o método para a obtenção dos principais constituintes do material aglutinador (alginato e pectina), sendo descrito o tempo de processamento e as principais fontes de origem desses constituintes, utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* no processo de imobilização.

Outra patente que se assemelha a este estudo é a WO201628366A1, pertencente a empresa francesa CAPSUM, a qual sugere a utilização da microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. O documento também descreve o processo de imobilização de células unicelulares de plantas, e especialmente no caso de algas, utilizando matriz de alginato de sódio. Nessa patente, foi reivindicado que o encapsulamento minimiza contaminações no cultivo e facilita a obtenção de produtos de interesse, como os utilizados no mercado de cosméticos, compostos farmacêuticos e *agrifoods*, assim como na obtenção de ácidos graxos. O documento cita três experimentos, os quais comprovam o aumento da resistência mecânica do processo de encapsulamento e a permeabilidade da membrana de alginato.

Por outro lado, a patente chinesa CN106277646A, pertencente a Universidade Jiaying, apresenta a utilização de processos simbióticos na imobilização, sendo citados como algas, a *Chlorella* sp. e o *Phytoplankton* sp., e como fungos, o *Ganoderma lucidum* e o *Pleurotus* sp. aprisionados em uma matriz de alginato de sódio. O documento destaca o processo de purificação de biogás produzido através da digestão anaeróbica de dejetos suínos, utilizando a simbiose entre o consumo de CO₂ e a remoção de nitrogênio e fósforo, obtendo um processo de purificação de biogás e concomitantemente o tratamento secundário da água.

5. Desafios e perspectivas futuras

O uso de sistemas baseados em microalgas imobilizadas para o tratamento de efluentes tem sido relatado na literatura com certa frequência. No entanto, raramente surgiu uma nova tecnologia a partir de décadas de pesquisa

para usar intencionalmente esses microrganismos como um processo efetivo. Por essa razão, diversas propostas, incluindo a imobilização de microalgas em matrizes poliméricas naturais e combinações de processos para o tratamento simultâneo de efluentes, apresentam potencial para uso comercial no futuro.

Existem muitos desafios para o emprego de microalgas em sistemas de fitorremediação. Primeiramente, a compreensão dos detalhes técnicos das estações de tratamento biológico de efluentes é muito limitada, o que pode resultar em um custo relativamente elevado em relação aos métodos convencionais de tratamento químico, os quais são mais simples e baratos. Considerando o volume de águas residuárias a serem tratadas, qualquer aumento no custo operacional pode dificultar a venda de novas tecnologias. Em segundo lugar, a proporção relativamente baixa de remoção de certos contaminantes, associado ao maior tempo de retenção nas plantas de tratamento de efluentes, elevam os custos e a relutância dos envolvidos em operar sistemas que naturalmente não são muito precisos e dependem essencialmente de fatores ambientais imprevisíveis. Tudo isso torna o emprego de processos biológicos, principalmente mediados por microalgas, uma tecnologia de nicho.

Contudo, considerando os procedimentos operacionais atualmente disponíveis, essa rota tecnológica pode ser integrada como uma estratégia complementar em sistemas tradicionais de tratamento de efluentes. Hoje, as empresas estão exigindo cada vez mais tecnologias ou processos com sustentabilidade ambiental e econômica para a maioria dos aspectos da sociedade moderna.

Os processos baseados em microalgas imobilizadas apresentam diversas vantagens como o controle e proteção do microrganismo dominante dentro do polímero empregado; é possível projetar e otimizar um biorreator para diferentes sistemas de imobilização tratar paralelamente vários contaminantes no efluente; as microalgas usam energia solar e requerem quantidades mínimas de outros insumos/recursos para operação; os sistemas de imobilização são fáceis de manusear em grande escala, não oferecem riscos à saúde humana, são ambientalmente corretos, não produzem poluição secundária e seus produtos finais podem ser transformados em matéria-prima para a produção de diversos bioprodutos, como biocombustíveis, bioenergia, biofertilizantes e químicos, que

podem agregar valor ao processo. Além disso, as microalgas imobilizadas podem ser produzidas em sistemas modulares, híbridos e compactos, gerando menos lodo e sendo menos dispendiosos em manter.

Independente destes aspectos, uma série de barreiras técnicas inerente a tecnologia de imobilização propriamente dita ainda persiste e precisa ser melhor estudada, como o aprimoramento e otimização dos polímeros de encapsulamento para aplicações específicas, desenvolvimento de processos em larga escala e alterações no comportamento metabólico das espécies de microalgas. Solucionar esses gargalos aumentará o potencial futuro de microalgas imobilizadas em instalações de tratamento de efluentes.

6. Conclusões

Estudar a prospecção de patentes para mapear as tendências tecnológicas globais no campo-alvo demonstram as lacunas que podem ser exploradas e complementadas para o desenvolvimento de trabalhos futuros com base em duas perspectivas principais. A primeira está baseada no fato de que as análises de patentes podem ser usadas para examinar os indicadores de colaboração entre instituições e requerentes, permitindo uma visão mais detalhada do grau de interação entre os setores público e privado, bem como parcerias globais para diferentes tipos de tecnologia. Adicionalmente, mapear e quantificar as patentes protegidas pode ser proveitoso para obter informações sobre sua relevância econômica em um determinado local. Com relação ao segundo ponto de vista, aspectos relacionados ao processamento de microalgas devem ser abordados considerando os custos de capital. Por exemplo, uma discussão mais aprofundada sobre o projeto bem-sucedido de biorreatores para o cultivo de células imobilizadas merece mais atenção, pois poucas tecnologias foram desenvolvidas até o momento. Portanto, a análise de documentos de patentes contribui para o avanço considerável em pesquisa, desenvolvimento e inovação, bem como para a tomada de decisão por parte dos investidores na área de processos de microalgas imobilizadas, pois um entendimento do cenário atual é útil em fornecer uma melhor previsão das mudanças tecnológicas.

7. Referências

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 3, p. 257–275, 2012.

CAO, S.; TENG, F.; WANG, T.; LI, X.; LV, J.; CAI, Z.; TAO, Y. Characteristics of an immobilized microalgae membrane bioreactor (iMBR): Nutrient removal, microalgae growth, and membrane fouling under continuous operation. **Algal Research**, v. 51, 102072, 2020.

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.

EMPARAN, Q.; HARUN, R.; DANQUAH, M. K. Role of phycoremediation for nutrient removal from wastewaters: A review. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 17, n. 1, p. 889–915, 2019.

ESPACENET. <https://worldwide.espacenet.com/> (Acesso em 15 de agosto de 2021).

GIESE, E. C. **Potencial Biotecnológico do Uso de Micro-organismos Imobilizados em Gel de Alginato de Cálcio**. 2015.

KUBE, M.; FAN, L.; RODDICK, F. Alginate-immobilised algal wastewater treatment enhanced by species selection. **Algal Research**, v. 54, 102219, 2021.

MALINOSKI, L.; MARANHO, L. T. Imobilização de consórcio de bactérias extraídas da rizosfera de *echinochloa polystachya* (KUNTH) HITCHC., Poaceae, e seu potencial para a degradação de petróleo. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 50373–50395, 2020.

MOHSENPOUR, S. F.; HENNIGE, S.; WILLOUGHBY, N.; ADELOYE, A.; GUTIERREZ, T. Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. **Science of the Total Environment**, v. 752, n. September 2020, p. 142168, 2021. The Authors. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142168>>.

SARKAR P.; DEY, A. Phycoremediation – An emerging technique for dye abatement: An overview. **Process Safety and Environmental Protection**, v.

147, p. 214–225, 2021.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. DE A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. 2º ed. EDITORA EDGARD BLUCHER LTDA, 2001.

SILVA, M. C. C. de P. **Tratamento terciário de efluente secundário, usando a microalga *Chlorella* sp. imobilizada em matriz de alginato de cálcio**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande, 2011.

TABERNERO, A.; DEL VALLE, E. M.; GALAN, M. A. Microalgae Technology: A Patent Survey. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, 2013.

VIJAYALAKSHMI, K.; GOMATHI, T.; LATHA, S.; HAJEETH, T.; SUDHA, P. N. Removal of copper(II) from aqueous solution using nanochitosan/sodium alginate/microcrystalline cellulose beads. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 440–452, 2016.

VON SPERLING, M. **Basic Principles of Wastewater Treatment**. IWA Publishing, 2007.

XIE, B.; GONG, W.; YU, H.; TANG, X.; YAN, Z.; LUO, X.; GAN, Z.; WANG, T.; LI, G.; LIANG, Z. Immobilized microalgae for anaerobic digestion effluent treatment in a photobioreactor-ultrafiltration system: Algal harvest and membrane fouling control. **Bioresource Technology**, v. 268, p. 139-148, 2018.

WIPO. World Intellectual Property Organization, 2016. **Patent Landscape Report on Microalgae-Related Technologies**. Disponível em: <https://www.wipo.int/publications/en/details.jsp?id=4042&plang=FR>. Acesso em: 04 de outubro de 21.

Autores

Paulo Alexandre Silveira da Silva*, Beatriz Jacob-Furlan, Rafael Silva Ribeiro Gonçalves, Pedro Henrique Siqueira Zatta, Gilvana Scoculi de Lira, Ihana Aguiar Severo, André Bellin Mariano.

Universidade Federal do Paraná, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS), S/N Centro Politécnico, Setor de Tecnologia, 81531-990, Curitiba, Brasil.

* Autor para correspondência: paulo.alexandre@ufpr.br

Análise de ciclo de vida de processos e produtos baseados em microalgas

Gilvana Scoculi de Lira, Beatriz Jacob-Furlan, Rafael Silva Ribeiro Gonçalves, Paulo Alexandre Silveira da Silva, Michelle Aparecida Coelho Moreira, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c9>

Resumo

O aquecimento global é uma questão considerável que vem sendo discutida recentemente e, devido às altas taxas de emissão de gases de efeito estufa (GEE), tem sido um dos principais fatores que pode comprometer a segurança hídrica, alimentar e energética mundial. Dessa maneira, é imprescindível atuar por meio de estratégias e aplicações sustentáveis a fim de minimizar esses impactos negativos. Este capítulo compila informações a respeito de análise de ciclo de vida (ACV) aplicada à processos e produtos a partir do cultivo de microalgas. O trabalho salienta que são necessárias investigações para compreender melhor os prejuízos causados pelas emissões de gases poluentes e a importância da aplicação de métodos sustentáveis com a finalidade de atender metas e acordos globais de desenvolvimento sustentável. Por fim, é descrita uma visão geral a respeito dos impactos, produtos e metodologia de ACV.

Palavras-chave: bioenergia, gases de efeito estufa, microalgas, mudanças climáticas, sustentabilidade.

1. Introdução

As atividades antrópicas vêm causando diversos prejuízos ao planeta, dentre eles é possível citar as alterações climáticas e a consequente extinção de diversas espécies (animais, vegetais e microrganismos), incluindo aquelas que sequer foram descritas, portanto, causando perda irreversível da biodiversidade não só local, mas global (CAVICCHIOL *et al.*, 2019).

Microalgas são organismos unicelulares, procariontes ou eucariontes que utilizam dióxido de carbono (CO₂) e a luz solar como forma de sintetizar compostos e converter em biomassa. Devido à rápida taxa de crescimento e capacidade de adaptação em ambientes com condições extremas, esses organismos possuem grande potencial para aplicações industriais, sendo necessário uma seleção de cepas adequadas para o processo de interesse (TANG *et al.*, 2020).

A biomassa a partir das microalgas pode ser utilizada na produção de biocombustíveis, cosméticos, químicos, ração animal, fármacos, alimentos e biofertilizantes (FERNÁNDEZ *et al.*, 2021; NAGARAJAN, CHANG, LEE, 2021). Além disso, as microalgas vêm despertando o interesse voltado ao desenvolvimento sustentável, pois utilizam a seu favor o CO₂ e outros poluentes que eventualmente estejam em excesso no ambiente (TANG *et al.*, 2020).

O CO₂ é considerado um dos maiores responsáveis pelo efeito estufa e aquecimento global, portanto é fundamental reduzir tais emissões. Assim, uma das maneiras para contornar este problema seria com a utilização de biocombustíveis, pois quando comparado com a eficiência de absorção arbórea, as microalgas apresentam eficiência fotossintética superior. Enquanto uma árvore é capaz de fixar entre 1 e 3,5 ton/ha ano de CO₂, as microalgas podem biofixar cerca de 6,3 a 16,2 ton/ha ano (CARVALHO *et al.*, 2010). Dessa forma, o CO₂ atua como nutriente na fisiologia das microalgas, e quando combinado com a aeração de cultivo, é possível elevar de 2 a 5 vezes a densidade e volume da biomassa algal (HAJINAJAF, MEHRABADI, TAVAKOLI, 2021).

Portanto, para que seja possível obter informações a respeito da sustentabilidade dos sistemas baseados em microalgas e redução dos prejuízos ambientais, é necessária a aplicação de um método de avaliação sobre a magnitude dos impactos causados a partir de um produto ou processo (RISCH, BOUTIN, ROUX, 2021).

Diante desse contexto, a análise do ciclo de vida (ACV) pode ser utilizada para quantificar a carga ambiental das tecnologias de remoção de CO₂. O objetivo de uma ACV é determinar os possíveis impactos ambientais referente a um produto ou processo ao longo da sua vida útil. Além disso, a ACV é definida por uma série de normas segundo a Organização Internacional de Normalização (ISO), ISO 14040 e ISO 14044 (TERLOUW *et al.*, 2021).

Neste cenário, é indispensável impulsionar novos métodos de produção com menor impacto ambiental a fim de manter ecossistemas vitais, aumentar a eficiência dos recursos naturais e, em paralelo, apoiar a sustentabilidade dentro das cadeias de abastecimento (BARTEK *et al.*, 2021).

Em suma, o proposto trabalho destaca os prejuízos provocados por emissões de poluentes atmosféricos e notoriedade de práticas sustentáveis com interesse em alcançar metas e acordos globais voltados ao desenvolvimento sustentável. Ademais, é retratado um panorama integral referente aos impactos, produtos e metodologia de ACV.

2. Microalgas

Microalgas são microrganismos clorofilados, eucarióticos ou procarióticos, responsáveis por aproximadamente metade de todo CO₂ fixado no mundo. Na presença da luz solar, esses microrganismos são capazes de converter o CO₂ (carbono inorgânico presente na atmosfera) e água, em oxigênio e biomassa, por meio do processo conhecido como fotossíntese (VILEM, BISOVA, VITOVA, 2016).

As microalgas podem ser facilmente encontradas em ambientes aquáticos, tais como, rios, lagos e oceanos. Devido à diversidade metabólica, esses organismos podem ser cultivados em águas salinas e não potáveis, como efluentes, sem a necessidade de um meio rico em nutrientes. Além disso, as microalgas podem ser cultivadas em áreas relativamente pequenas. Nesse cenário, a simplicidade desses microrganismos permite ampla aplicabilidade industrial (DANESHVAR *et al.* 2021).

Geralmente, as microalgas são cultivadas fotoautotroficamente, mas podem ser cultivadas em regimes fotoheterotróficos, heterotróficos e mixotróficos, de acordo com os parâmetros de luminosidade e fonte de carbono as quais são submetidas. Em cultivos fotoautotróficos, as microalgas necessitam de carbono de origem inorgânica e luz como fonte de energia. Se o carbono for de origem orgânica em um cultivo com fonte luminosa, chamamos de cultivo fotoheterotrófico. Em cultivos heterotróficos não há fonte luminosa, toda energia é requerida para o crescimento das microalgas, é provido pela fonte de carbono de origem orgânica. Caso haja fonte de energia luminosa no cultivo e for

suplementado com fonte de carbono orgânico e inorgânico, então é chamado de mixotrófico (GOSWAMI *et al.* 2020; DANESHVAR *et al.* 2021).

O cultivo de microalgas pode ser realizado em sistemas abertos ou fechados. Entre os sistemas abertos, os lagoas no formato *raceway ponds* e os tanques circulares apresentam a maior área superficial total, tendo relatos de sistemas de até 5000 m². Eles apresentam baixo custo e facilidade de implementação e escalonamento. As lagoas *raceway* são piscinas rasas, com cerca de 0.2 – 0.4 m de profundidade, tendo sua superfície dividida em pistas para circulação e recirculação de efluentes contendo microalgas. A baixa profundidade é devido a necessidade de priorizar a penetração da luz no sistema, para manter a atividade fotossintética. Entre as principais desvantagens, pode-se destacar a influência do meio ambiente no sistema, exposição a contaminações e baixa produtividade (SATYANARAYANA *et al.* 2011; ACIÉN *et al.* 2017).

Os sistemas de fechados de produção de biomassa apresentam altas taxas de transferência de energia luminosa e produtividade, porém, há problemas quanto a transferência de massa e dificuldade para manter a homogeneidade dentro do biorreator (ACIÉN *et al.* 2017; DANESHVAR *et al.* 2021). Dentre os fotobiorreatores, a configuração tubular é a mais promissora. Este fotobiorreator normalmente é construído por tubos de plástico transparentes de aproximadamente 0.1m de diâmetro interno, dispostos em *loops*. O sistema tende a ter tubos mais estreitos, otimizando a captação da luz, melhorando as propriedades hidrodinâmicas e aumentando a produtividade. O fotobiorreator deve ter um *design* apropriado para que não haja acúmulo de O₂ nos tubos, por isso, muitos modelos contam com um tanque de retenção, o qual possui a finalidade de dispersar o oxigênio dissolvido e homogeneizar o meio. Entre as principais vantagens, pode-se destacar o escalonamento linear, alta produtividade (chegando a 900 mg L⁻¹d⁻¹) e a possibilidade de automação. Por outro lado, as desvantagens estão relacionadas a manutenção do sistema, e alto consumo energético (SATYANARAYANA *et al.* 2011; ABDEL-RAOUF *et al.* 2012; ACIÉN *et al.* 2017).

Tabela 1. Vantagens e desvantagens dos sistemas de cultivo.

Sistemas	Vantagens	Desvantagens
Aberto	Facilmente escalável; Baixo custo de construção, manutenção e operação.	Dificuldade em controlar as condições de cultura; Baixa produtividade de biomassa; Susceptível à contaminação por outros microrganismos; Susceptível às alterações do tempo (evaporação excessiva de água e fonte de luz inconsistente); Aporte insuficiente de luminosidade.
Fechado	Distribuição uniforme da luminosidade; Baixa taxa de evaporação;	Investimento oneroso (custo capital e operacional); Adesão de microalgas na superfície dos tubos pode causar bloqueio e/ou biofilme.
	Baixo risco de contaminação; Maior controle dos parâmetros operacionais de cultivo.	Alto consumo energético.

Fonte: Adaptado de TANG *et al.* 2020.

2.1. Bioprodutos a partir de microalgas

Com o uso das microalgas para tratamento de águas residuais e limpeza de gases de combustão, a biomassa remanescente é produzida com um baixo

custo, mantendo o potencial energético, além de poder ser aplicada como matéria-prima na produção de biocombustíveis, como biodiesel, bioetanol, biohidrogênio, biometano e bioquerosene (FERNANDEZ *et al.*, 2021; NAGARAJAN, CHANG, LEE, 2021).

As microalgas são consideradas promissores recursos para sintetizar compostos orgânicos com propriedades terapêuticas e nutritivas devido ao teor de macromoléculas como proteínas, hidratos de carbono, fibras, carotenóides, ácidos graxos, sais minerais, vitaminas, enzimas, peptídeos e esteróis. No entanto, a concentração dessas macromoléculas pode variar de acordo com a espécie das microalgas (BARROS *et al.*, 2019).

2.1.1. Biocombustíveis a partir de microalgas

As razões mais importantes para a disseminação dos biocombustíveis são os desafios ambientais causados pelos combustíveis fósseis e o seu esgotamento. Com a gradativa mudança para fontes renováveis, espera-se que haja redução no que concerne aos impactos ambientais. A fim de garantir a segurança energética e atender o critério “desenvolvimento sustentável”, é necessário explorar novos métodos de produção com menor impacto ambiental e conseqüentemente expandir a eficiência de recursos naturais, garantindo processos sustentáveis (ANGILI *et al.*, 2021; GANI, 2021).

Espera-se que os biocombustíveis a partir de microalgas possam atender objetivos específicos relacionados à emissão de GEE e consumo de água. Embora a comercialização de biocombustíveis a partir de microalgas esteja em seu início, o planejamento pode garantir a sustentabilidade da cadeia de abastecimento (EFROYMSON *et al.*, 2021).

Os biocombustíveis podem ser classificados de acordo com suas tecnologias de produção. Sendo de primeira, segunda, terceira (NAZARI *et al.*, 2020) ou quarta geração de biocombustíveis (ARON *et al.*, 2020). Os biocombustíveis de primeira geração podem ser produzidos a partir de culturas alimentares terrestres, como milho, trigo, arroz, batata, cevada, óleo vegetal e cana-de-açúcar. A segunda geração é oriunda de culturas não-alimentares, ou seja, resíduos florestais e biomassa lignocelulósica, como palha de trigo e bagaço de cana-de-açúcar. A terceira geração de biocombustíveis é produzida a partir da biomassa de microalgas, algas, leveduras, fungos e cianobactérias

(ARON *et al.*, 2020; NAZARI *et al.*, 2020). A quarta geração de biocombustíveis, por sua vez, é baseada na modificação genética de microalgas, cujo objetivo é produzir microalgas que capturem altas quantidades de CO₂, aumentem a produtividade dos biocombustíveis e adaptabilidade das microalgas em águas residuais para crescerem em ambientes com poucos nutrientes (ARON *et al.*, 2020).

Contudo, a produção de biocombustíveis pode ter vários impactos dependendo do tipo de matéria-prima utilizada, das condições locais, da concepção e implementação do respectivo processo de conversão. Assim, para identificar os encargos ambientais do sistema de produção, é necessária uma avaliação exaustiva, podendo ser realizada por meio de uma análise de ciclo de vida (ANGILI *et al.*, 2021).

3. Análise de ciclo de vida (ACV)

A análise do ciclo de vida (ACV) é uma metodologia normalizada pelas norma ISO, séries 14040 e 14044 (ANGILI *et al.*, 2021), baseada na ciência e utilizada para avaliar e mensurar os impactos associados ao ciclo de vida de produtos e processos no ambiente, podendo ajudar a compreender as implicações ambientais das estratégias da economia circular (EC) (PEÑA *et al.*, 2021).

A ACV oferece uma interpretação abrangente que relaciona as ações com os impactos ambientais. Ao mesmo tempo, ela fornece resultados quantitativos e qualitativos, considerando a ligação entre as funções do sistema e os impactos ambientais. Assim, é possível identificar as questões que precisam ser implementadas. O processo para a implementação de uma ACV consiste em quatro etapas essenciais: (i) planejamento (definição e metas e escopo): que consiste em limitar a atividade a ser avaliada e estabelecer a situação e efeitos ambientais que serão avaliados; (ii) análise do inventário: estágio em que as entradas e saídas são quantificadas (energia, matéria prima, água, emissões atmosféricas e resíduos sólidos) que podem ser quantificados por meio de banco de dados, pesquisas e cálculos de software; (iii) avaliação de impacto: fase que há avaliação do impacto ambiental como resultado da etapa anterior (ii) onde a entrada e os dados de saída são traduzidos em impactos ambientais; (iv) interpretação (análise de melhorias): etapa que interage com as demais etapas,

envolvendo discussões de melhorias e propõe recomendações e estratégias interligadas ao escopo definido (KYRIAKI *et al.*, 2018).

Dessa maneira, para fazer melhor uso dos recursos naturais disponíveis e, em paralelo, mitigar os impactos ambientais, é necessário um método de avaliação que seja representativo, como a ACV (ZHANG *et al.* 2020). Esta abrangente ferramenta compreende todas as trocas ambientais, como recursos, energia, emissões e resíduos, que eventualmente ocorrem ao longo do ciclo de vida de uma cadeia produtiva (ZHANG, HAAPALA, 2015). A Figura 1 apresenta as principais etapas consideradas na ACV.

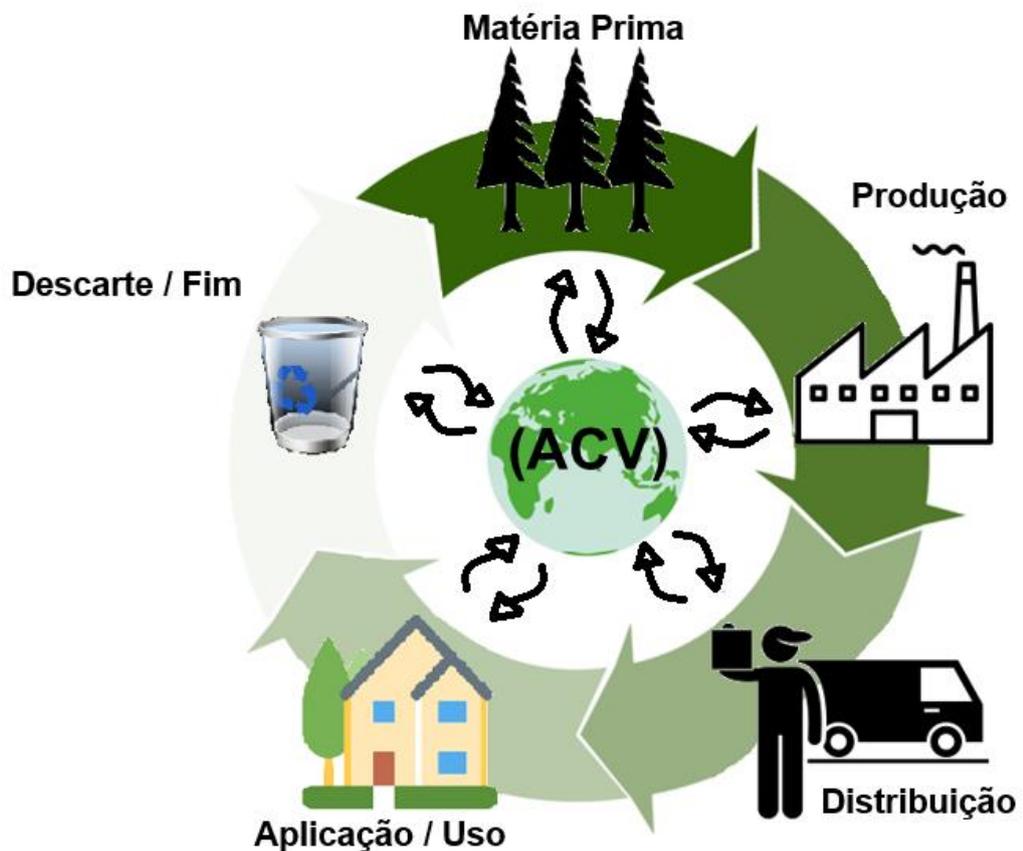


Figura 1. Interações da ACV com o ambiente.

À vista disso, as indústrias têm utilizado a ACV para comparar alternativas no processo de desenvolvimento de seus produtos, relatar a intervenção ambiental, fornecer base para monitoramento ambiental e trazer uma

perspectiva holística para tomada de decisões. (PEÑA *et al.*, 2021; ZHANG *et al.* 2020), conforme sumarizado na Tabela 2.

Tabela 2. Objetivos da aplicação da análise de ciclo de vida.

Aplicações da ACV
<ul style="list-style-type: none">▪ Decisões envolvidas em processos e produtos;▪ Decisões de compra de materiais (durabilidade, reparabilidade, potencial de reciclagem, utilização dissipativa);▪ Atualização de informações;▪ Rotulagem ecológica;▪ Proibições ambientais relacionadas a produção;▪ Decisões relacionadas a regulamentações.

Fonte: Adaptado de PEÑA *et al.*, 2021; ZHANG *et al.* 2020.

Acerca de biocombustíveis de microalgas, a metodologia ACV pode ser utilizada para avaliar opções alternativas de processamento de biodiesel a partir da biomassa, como por exemplo, a utilização de solventes para extração dos lipídeos e identificar os pontos críticos nas fases de processamento, com a finalidade de contribuir para processos mais sustentáveis (ZAPATA-BOADA *et al.*, 2021).

A ACV traduz as emissões e a utilização de recursos para o impacto ambiental para as categorias de impacto selecionadas, incluindo: (i) aquecimento global, (ii) potencial de acidificação, (iii) potencial de eutrofização, (iv) uso da terra e (v) uso da água. Estas categorias estão relacionadas a indicadores e métricas de sustentabilidade que também são considerados elementos chave para a perda de biodiversidade e danos na qualidade dos ecossistemas (BARTEK *et al.*, 2021).

Considerando o ponto de vista energético, uma ACV realizada com o bioetanol, reforça que este biocombustível de primeira geração é considerado a melhor opção. Com relação ao uso da terra necessária para produzir bioetanol, a terceira e segunda gerações ocupam áreas agrícolas menores quando comparadas à primeira geração. Por outro lado, os biocombustíveis de terceira

geração não podem competir com as outras gerações de biocombustíveis em termos de eficiência energética. Por fim, é importante destacar que, em geral, as ACV's não podem considerar todos os impactos relevantes, pois a avaliação da sustentabilidade dos biocombustíveis é complexa e requer uma abordagem multifatorial para uma avaliação completa. Como geralmente as ACV's estão direcionadas aos impactos ambientais é difícil comparar e concluir a respeito da sustentabilidade dos biocombustíveis em aspectos econômicos e sociais (NAZARI *et al.*, 2020).

4. Considerações finais

O aquecimento global e as mudanças climáticas são resultados das emissões de gases nocivos à atmosfera, o que implica em grandes impactos relacionados ao ambiente e à saúde humana. Desse modo, com a aplicação de medidas e estratégias sustentáveis, é possível minimizar estes efeitos deletérios sobre os ecossistemas. Em vista disso, a utilização de microalgas pode ser uma alternativa com grande potencial para a produção de energia renovável e simultaneamente mitigação de emissões poluentes. Ademais, a eficácia desse processo pode ser demonstrada por meio de uma ACV.

5. Referências

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v 19, n.3, p.257–275, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>.

ACIÉN, Gabriel *et al.* Photobioreactors for the production of microalgae. In *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*, p.1-44, 2017. **Woodhead Publishing Series in Energy**. 10.1016/B978-0-08-101023-5.00001-7

ANGILI, S. Tahereh *et al.* Life Cycle Assessment of Bioethanol Production: A Review of Feedstock, Technology and Methodology. **Energies**, v.14, 2021. <https://doi.org/10.3390/en14102939>.

BARROS, A. *et al.* Heterotrophy as a tool to overcome the long and costly autotrophic scale-up process for large scale production of microalgae. **Scientific reports**, v.9, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50206-z>.

BARTEK, Louise *et al.* Life cycle assessment of fish oil substitute produced by microalgae using food waste. **Sustainable Production and Consumption**, v.27, p.2002-2021, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2021.04.033>.

CARVALHO, N. João Luis *et al.* Potential of soil carbon sequestration in different biomes of Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832010000200001>.

CAVICCHIOLI, Ricardo *et al.* Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. **Nature Reviews Microbiology**, v.17, p.569-586, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0222-5>.

DANESHVAR, Ehsan *et al.* Insights into upstream processing of microalgae: A review. **Bioresource Technology**, v. 329, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124870>.

EFROYMSON, A. Rebecca *et al.* Better management practices for environmentally sustainable production of microalgae and algal biofuels. **Journal of Cleaner Production**, v. 289, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125150>.

ENZING, Christien *et al.* Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe. **JRC Scientific and policy reports**, 2014. <https://doi:10.2791/3339>.

FERNÁNDEZ, A. Gabriel *et al.* The role of microalgae in the bioeconomy. **New Biotechnology**, v.61, p.99-107, 2021. <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC85709>.

GANI, Azmat. Fossil fuel energy and environmental performance in an extended STIRPAT model. **Journal of Cleaner Production**, v.297, p.126526, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126526>.

GOSWAMI, K. Rahul *et al.* Microalgae-based biorefineries for sustainable resource recovery from wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101747>.

HAJINAJAF, Nima; MEHRABADI, Abbas; TAVAKOLI, Omid. Practical strategies to improve harvestable biomass energy yield in microalgal culture: A

review. **Biomass and Bioenergy**, v. 145, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105941>.

KYRIAKI, Elli *et al.* Life cycle analysis (LCA) and life cycle cost analysis (LCCA) of phase change materials (PCM) for thermal applications: A review. **International Journal of Energy Research**, v.42, p.3068-3077, 2018. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/er.3945>.

NURUL, Aron *et al.* Sustainability of the four generations of biofuels – A review. **International Journal of Energy Research** 44:9266-9282, 2020. <https://doi.org/10.1002/er.5557>.

NAGARAJAN, Dillirani; CHANG, Jo-Shu; LEE, Duu-Jong. Pretreatment of microalgal biomass for efficient biohydrogen production—Recent insights and future perspectives. **Bioresource technology**, v. 302, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122871>.

NAZARI, T. Mateus *et al.* Biofuels and their connections with sustainable development goals: a bibliometric and systematic review. **Environment, Development and Sustainability**, v.23, p.11139-11156, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10668-020-01110-4>.

PEÑA, Claudia *et al.* Using life cycle assessment to achieve a circular economy. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v.26, p.215–220, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11367-020-01856-z>.

RISCH, Eva; BOUTIN, Catherine; ROUX, Philippe. Applying life cycle assessment to assess the environmental performance of decentralised versus centralised wastewater systems. **Water Research**, v.196, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116991>.

SATYANARAYANA, K. G.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C. A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials. **International Journal of Energy Research**, v. 21,2011. <https://doi.org/10.1002/er>.

TANG, D. Y. Y. *et al.* Potential utilization of bioproducts from microalgae for the quality enhancement of natural products, **Bioresource Technology**, v.304, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122997>.

TERLOUW, T. *et al.* Life cycle assessment of carbon dioxide removal technologies: a critical review. **Energy & Environmental Science**, v.14, 2021. DOI: 10.1039/d0ee03757e.

VILEM, Zachleder; BISOVA, Katerina; VITOVA, Milada. The Cell Cycle of Microalgae. In: **The Physiology of Microalgae**, p.3-46, 2016. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24945-2>.

ZAPATA-BOADA, S. *et al.* Integrating Process Simulation and Life Cycle Assessment to Evaluate the Economic and Environmental Performance of Algae Biodiesel. **Computer Aided Chemical Engineering**, v.50, p.1903-1908, 2021. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88506-5.50295-3>.

ZHANG, Xugang *et al.* A review on energy, environment and economic assessment in remanufacturing based on life cycle assessment method, **Journal of Cleaner Production**, v.255, p.2-3, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120160>.

ZHANG, Hao; HAAPALA, R. Karl. Integrating sustainable manufacturing assessment into decision making for a production work cell. **Journal of Cleaner Production**, v.105, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.01.038>.

Autores

Gilvana Scoculi de Lira*, Beatriz Jacob-Furlan, Rafael Silva Ribeiro Gonçalves, Paulo Alexandre Silveira da Silva, Michelle Aparecida Coelho Moreira, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano.

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua Cel. Francisco Heráclito dos Santos, nº 100 - Centro Politécnico – Prédio da Administração – 2º andar, Caixa Postal 19011, CEP 81531-980, Curitiba – Paraná, Brasil.

* Autor para correspondência: gilvanalira@ufpr.br

CAPÍTULO 10

Negócios em biotecnologia de microalgas: desenvolvimento de *startups*

Flávio Júnior Santiago Silva, Erick Cordeiro Kollross, Emeli Naisa Krebs, Valeria Cristina Pereira Antezana, Ihana Aguiar Severo, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1.c10>

Resumo

Atualmente, a área da biotecnologia está crescendo exponencialmente. Estima-se que até em 2024 este setor gerará uma receita de aproximadamente US \$ 700 bilhões. Os principais desenvolvimentos, são especificamente na área biomédica, porém a biotecnologia microalgal tem atraído constante interesse de pesquisadores, desenvolvedores e industrialistas. Esse campo de pesquisa utiliza microalgas e sua capacidade fotossintética para a produção de inúmeros produtos e aplicações em diversos segmentos. Com o propósito de desenvolver novas tecnologias na área de biotecnologia de microalgas e visando um modelo de negócio escalável e reprodutível, o Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS) da Universidade Federal do Paraná, referência na produção de microalgas tanto em escala laboratorial quanto industrial, projetou algumas *startups*, através da metodologia *Startup Experience*. Este método integra outras metodologias ágeis de gestão e desenvolvimento de negócios como *Scrum*, *Design Sprint* e *Lean Startup*. Com isso, as *startups* baseadas em processos de microalgas têm um grande potencial para serem aplicadas como soluções inovadoras em diferentes setores industriais. Portanto, o objetivo do presente capítulo é fornecer uma visão geral sobre negócios em biotecnologia de microalgas voltados para o desenvolvimento de *startups*.

Palavras-chave: inovação, metodologia *Startup Experience*, microalgas, modelo de negócio.

1. Introdução

Em uma era onde a sustentabilidade se tornou a principal prioridade, desenvolver bens de consumo ambientalmente e economicamente viáveis para a sociedade surge como um novo paradigma que deve superar os modelos tradicionais baseados em insumos fósseis nos próximos anos. A biotecnologia, uma área que utiliza sistemas biológicos, organismos vivos ou parte deles para criar ou modificar diferentes produtos/processos com usos específicos, começou a se desenvolver rapidamente nas últimas quatro décadas justamente para atender a estes requisitos (WOHLGEMUTH *et al.*, 2021).

Seguindo esse conceito, a biotecnologia algal apresenta-se como uma área emergente de pesquisa e desenvolvimento (P&D) no campo da ciência e tecnologia, a qual está fundamentada na aplicação tecnológica de microalgas, macroalgas e cianobactérias ou seus derivados para elaborar ou modificar produtos e processos (VIEIRA *et al.*, 2020).

Neste trabalho, o foco são as microalgas, que são microrganismos unicelulares com uma diversidade filogenética que também se reflete na diversidade de habitats em que podem ser encontradas e em sua diversidade morfológica, fisiológica e bioquímica (BOROWITZKA, 2015). Essas minúsculas entidades aquáticas são caracterizadas como organismos autotróficos, preferencialmente fotossintetizantes, com elevadas taxas de crescimento relacionada a eficiência de biofixação de dióxido de carbono (CO₂) (TANVIR *et al.*, 2021).

As microalgas já têm ampla aplicação biotecnológica como fontes de insumos químicos úteis, incluindo pigmentos, ácidos graxos, óleos, polissacarídeos, além de nutracêuticos, alguns cosméticos e fármacos. Elas também podem ser utilizadas para produzir alimentos, ração animal, biofertilizantes, biomateriais e químicos. Por outro lado, as microalgas são consideradas como matéria-prima em potencial para a produção de biocombustíveis, incluindo principalmente biodiesel, bioetanol, biometano e biohidrogênio, com previsão que irão desempenhar um importante papel no setor de energia renovável no futuro (TELLES *et al.*, 2018; SEVERO *et al.*, 2019).

A busca por novos produtos a partir de novas espécies, bem como por aplicações inovadoras ou aprimoradas, continua. Existem recentes descobertas no cultivo, colheita, extração e processamento de sua biomassa, além de

técnicas de engenharia genética, criando oportunidades na biotecnologia microalgal (AHMAD *et al.*, 2022).

Diante desse contexto, o mercado global de microalgas é estimado em torno de 3.4 bilhões de dólares no ano de 2021 e está projetado para atingir um tamanho de US\$ 4.6 bilhões em 2026. O aumento da conscientização entre as pessoas sobre benefícios para a saúde dos produtos derivados de microalgas e os aspectos ambientais dos processos são os principais motores que impulsionam a demanda do mercado no período previsto (MARKETS & MARKETS, 2021).

Com o seu viés de inovação, as microalgas têm sido exploradas progressivamente. A cada ano aumenta o número de empresas emergentes nessa área, assim como o interesse por parte dos investidores neste tipo de negócio (BRASIL, 2010). Contudo, antes de alcançar um produto, processo ou serviço inovador, como no caso das microalgas, é preciso que, além do conhecimento básico, seja desenvolvido um modelo de negócios que contemple alguns passos sequenciais como a ideia, descoberta do público-alvo, validação, invenção, produção do produto até a sua inserção no mercado e disponibilização para a sociedade (SANTI JR. & NEVES, 2020). Esses procedimentos são organizados semelhantemente às escalas de maturidade tecnológica desenvolvidas pela NASA (em inglês *Technology Readiness Levels*, TRL) (THOMPSON & THOMPSON, 2020).

A empresas em estágios iniciais de desenvolvimento, conhecidas como *startups*, são baseadas em desenvolver ou aprimorar um modelo de negócios com o intuito de viabilizar economicamente rotas tecnológicas escaláveis, disruptivas e repetíveis. Usualmente, as *startups* se desenvolvem dentro de universidades, instituições de pesquisa, incubadoras ou novas empresas (SEGERS, 2018). Elas estão relacionadas a uma série de *players*, geralmente dominadas por uma grande empresa com forte capacidade de *marketing* e empresas iniciantes com foco em P&D (SANTI JR. & NEVES, 2020).

No campo da biotecnologia de microalgas, as *startups* fazem parcerias com grandes empresas para aumentar o potencial de seus produtos principais devido à ausência de infraestrutura para os testes experimentais, investimentos financeiros externos e/ou recursos de *marketing*. A indústria de microalgas enfrenta altos custos em P&D, comercialização e mudanças tecnológicas

frequentes, caracterizadas por uma série fatores como: localização geográfica, comércio limitado de produtos/processos, alto risco em função do investimento de capital elevado, requer uma forte base científica, possui muitas incertezas técnicas, depende fortemente da legislação de patentes e direitos de propriedade intelectual, parcerias externas, esforços internos, sistemas regulatórios e institucionais claros, dentre outros diversos aspectos (ROTHAERMEL & DEEDS, 2004; CHAMMASSIAN & SABATIER, 2020; THOMPSON & THOMPSON, 2020; MARCON & RIBEIRO, 2021; SEVERO *et al.*, 2021).

Independente destes aspectos, para estruturar uma *startup* é necessário utilizar metodologias e ferramentas apropriadas para colocar em prática o projeto a ser desenvolvido. Através dessas técnicas é possível demonstrar o caminho que o empreendedor deve percorrer ao tentar transformar o resultado de uma pesquisa em uma empresa real, entregando produtos inovadores (THOMPSON & THOMPSON, 2020).

Nesse sentido, o objetivo do presente capítulo é fornecer uma visão geral sobre negócios em biotecnologia de microalgas voltados para o desenvolvimento de *startups*. O trabalho apresenta algumas metodologias ágeis para desenvolver um modelo de negócio como atividades de empreendedorismo do projeto de extensão universitária Ciência Para Todos, da Universidade Federal do Paraná. A iniciativa visa incentivar equipes interdisciplinares a desenvolverem tecnologias visionárias de um ambiente social mais sustentável no campo da biotecnologia de microalgas.

2. Negócios em biotecnologia de microalgas

A biotecnologia é um dos campos de pesquisa das ciências biológicas que atualmente está em constante desenvolvimento científico e conseqüentemente está atraindo grandes aportes financeiros de investidores (ASSIS, 2020). O fato vital destes interesses na biotecnologia é por poder utilizar aplicações tecnológicas em qualquer tipo de sistema biológico como modificar produtos ou processos entre seus diversos níveis de atuação. Como tal, pode se tornar, no futuro, uma das áreas mais promissoras por permitir radicais mudanças na eficiência de seus diversos produtos, processos e/ou serviços, assim

ênfatizando-se suas potencialidades técnicas e abrangências mercadológicas (PACHECO-TORGAL, 2017).

No Brasil, a biotecnologia tem possibilitado a criação de *startups*, a qual é uma modalidade de negócio fundamentada na lógica de *lean production* ou *lean enterprise*, tendo em vista os princípios organizacionais do *just in time*, qualidade total, processo de melhoramento contínuo, equipes autônomas de produção e uma série de instrumentos que implementam todos esses conceitos e teorias (ANUNCIAÇÃO, 2018). Estes estão relacionados as áreas da saúde humana, agronegócios, bioenergias, industrial, ambiental e marinha, cujas diferentes aplicações podem ser utilizadas para o crescimento destes setores, baseadas no conhecimento versátil que a biotecnologia aborda.

Nas áreas do agronegócio, indústria e meio ambiente, destaca-se a biotecnologia de microalgas, que utiliza sua capacidade fotossintética de diferentes cepas de microalgas, para produção em escala comercial de diversos insumos úteis (NEZAMMAHALLEH, 2018).

De acordo com a plataforma de pesquisas científicas *Science Direct* (Figura 1), o número de pesquisas publicadas até julho de 2021 aumentou mais de 100% em relação ao ano anterior. Quantitativamente, isso representa mais de 110 trabalhos científicos publicados com modelo de negócios em biotecnologia de microalgas. Em consideração ao apresentado, nota-se o grande interesse pela comunidade acadêmica científica nesse campo. Muitos destes trabalhos publicados referem-se as pesquisas associadas à geração de bioenergia, estudos para a captura do dióxido de carbono, geração de energia sustentável em biorrefinarias como também novas perspectivas para a indústria de microalgas no tratamento de águas residuais e industriais de aproveitamento de biomassas dentre outras perspectivas.

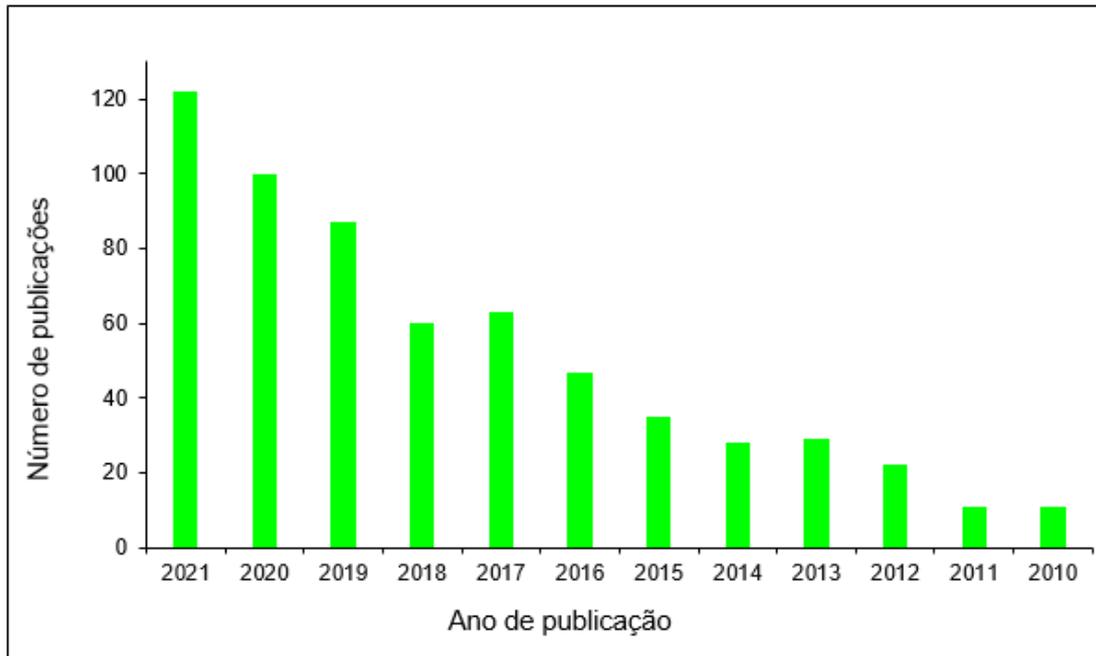


Figura 1. Trabalhos científicos publicados pelo portal *Science Direct*.

2.1. Oportunidades para desenvolver uma *startup*

As *startups* são empresas novas que oferecem um produto ou serviço inovador, e de rápido crescimento. Atualmente, as *startups* são reconhecidas como empresas de alta relevância para o desenvolvimento de qualquer país (SAAD, 2011). Essas empresas desenvolvem soluções tecnológicas para resolver problemas existentes e a partir deles criam oportunidades que possam agregar valor à sociedade.

Por meio destas oportunidades, surgem ideias com o propósito de resolver problema com base em um modelo de negócio que seja viável e exequível. Muitas vezes, acredita-se que um negócio de sucesso surge a partir daquele momento “eureka”, de um *insight* genial, e que a caminhada rumo ao sucesso é mera questão de tempo. Para que um empreendimento “aconteça”, seja ele uma *startup* ou uma empresa tradicional, é fundamental que seja identificada uma oportunidade. E o que seria essa tal oportunidade? Melhor: o que seria uma boa oportunidade? Normalmente as boas oportunidades estão alinhadas com aquilo que sabemos e/ou gostamos de fazer. Ou seja, a chance de que uma boa ideia seja identificada quando o foco está direcionado para algo

que não estamos acostumados ou não gostamos, é muito pequena (THOMPSON & THOMPSON, 2020).

De acordo com a base de dados oficial do ecossistema brasileiro de *startups*, o *StartupBase* de 2020, conforme ilustrado na Figura 2, apresentou as *startups* por mercado de atuação, o qual a área da biotecnologia obteve um crescimento de 0,41% em relação às *startups* criadas no Brasil até 2020. No entanto comparado com outros mercados mais tradicionais como o da educação que cresceu 8,74%, percebe-se a grande divergência de exploração/investimento nestes segmentos. Diante do exposto, é notável a necessidade de maiores investigações no campo da biotecnologia como o aprofundamento de pesquisas em seus diversos nichos de trabalhos. Isso representa, criar interesse para futuros investimentos em novos modelos de negócios.

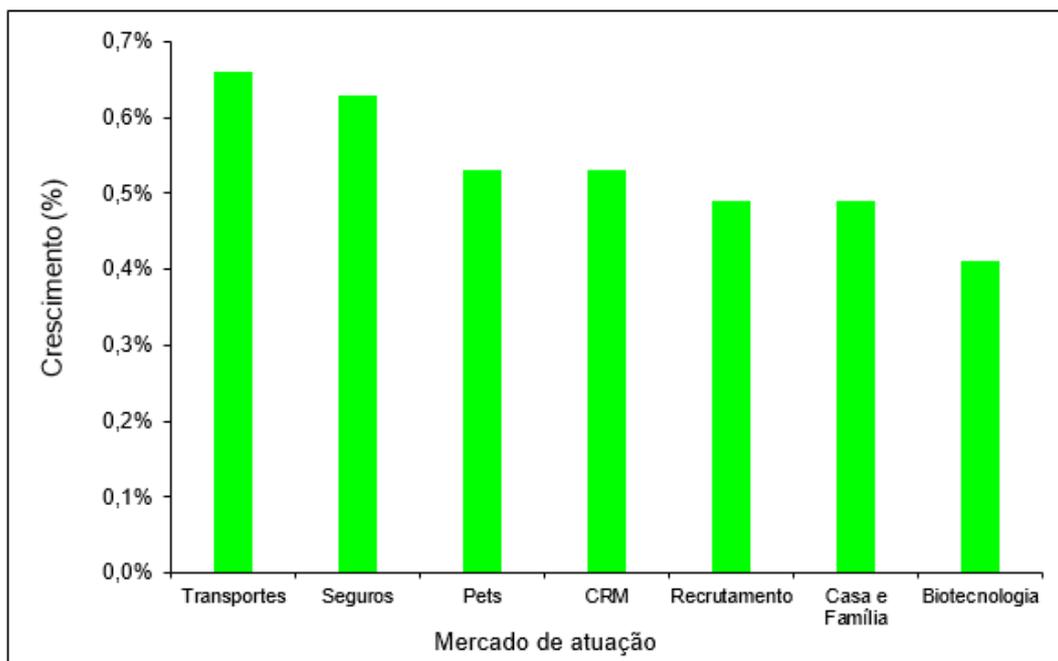


Figura 2. Mercado de atuação de *startups* no Brasil.

2.2. Aplicação da Metodologia *Startup Experience*

A Metodologia *Startup Experience*, desenvolvida em 2016 pelo projeto de extensão Ciência para Todos da Universidade Federal do Paraná (Curitiba, Paraná, Brasil), tem como objetivo divulgar a Ciência, Tecnologia e Inovação

para a sociedade, conforme relatado em Santos *et al.* (2021). Uma das iniciativas associadas ao projeto consiste na aplicação de conceitos de ensino e aprendizagem baseadas em ferramentas metodológicas do ecossistema de *startups*, como àquelas também utilizadas em grandes empresas/indústrias de diversos campos de atuação, com o foco principal em desenvolver trabalhos de inovação e empreendedorismo para solucionar problemas existentes na sociedade.

A metodologia foi desenvolvida no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS) em parceria com os Departamentos de Engenharia Elétrica e Mecânica da UFPR. O NPDEAS é referência em pesquisas em biotecnologia de microalgas, principalmente no cultivo de microalgas tanto em escala laboratorial quanto em escala industrial. Este grupo de pesquisa desenvolve processos voltados para o cultivo de microalgas com a finalidade de produzir bioprodutos de interesse comercial. O núcleo conta com todas as etapas produtivas, desde a coleta de microalgas e manutenção de cepas até o processamento e extração dos compostos de interesse.

Primeiramente, os microrganismos são cultivados em escala laboratorial para a produção de pré-inóculo. Gradativamente a produção é escalonada, passando de uma escala piloto, até se estabelecer o cultivo nos fotobiorreatores industriais. Após a coleta, a biomassa microalgal é desidratada para posterior extração metabólitos desejados. Os resíduos dos cultivos são reaproveitados por meio de um biodigestor para a produção de biogás (TAHER, 2019). A Figura 3 apresenta o *layout* do NPDEAS e suas respectivas unidades.

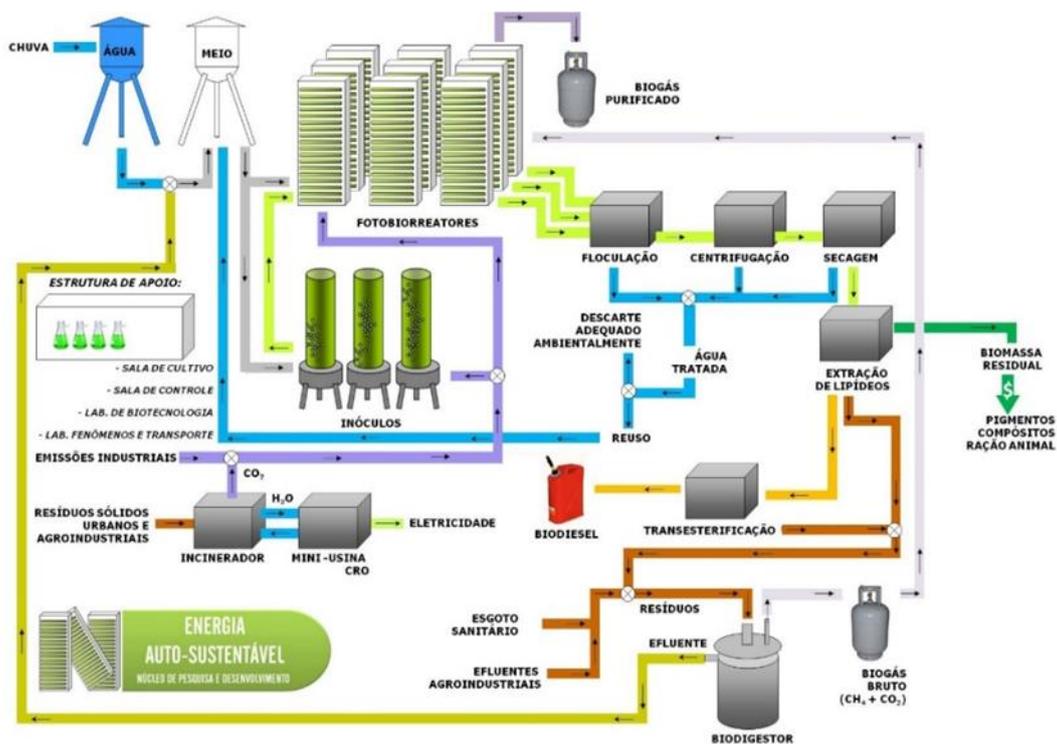


Figura 3. Layout do NPDEAS.

Com o apoio da Iniciativa *Startup Experience* do projeto Ciência para Todos, o NPDEAS desenvolveu 3 *startups* utilizando microalgas como matéria-prima principal, as quais são descritas a seguir.

1) Green Bubbles: A *Green Bubbles* é uma *startup* que utiliza a tecnologia de imobilização de microalgas em matriz de alginato de cálcio para aumentar a longevidade fotossintética, viabilidade, durabilidade e atividade biocatalisadora celular das microalgas. Esse processo vislumbra a biorremediação, por meio remoção de compostos poluentes, de forma sustentável e mais econômica, uma vez que se trata de uma tecnologia que intensifica e otimiza processos microalgais. Dessa forma a *Green Bubbles* poderá tratar diversos tipos de efluentes e atender diversos setores como, agropecuário, agrícola, energético e químicos em geral. No momento atual, a *startup* está com 100% de ideação e em fase de desenvolvimento de um MVP (*Minimum Viable Product*). A Figura 4 (A) apresenta a logomarca da *startup*.

2) Alga'y: Devido aos vários problemas na indústria têxtil, um dos setores que mais polui no mundo, a Alga'y foi criada com o propósito de substituir o uso de tecidos artificiais, desenvolvendo um tecido tecnológico constituído de fibras de macroalgas, provenientes do litoral brasileiro. A Alga'y objetiva cultivar as algas, processá-las para a elaboração de um potencial material semelhante a uma fibra têxtil que poderia substituir um tecido convencional. Com esse processo, seria possível produzir fibras sustentáveis para aplicação em diversos produtos de interesse comercial. Atualmente, a *startup* encontra-se em fase experimental e testagem das amostras. A Figura 4 (B) ilustra a logomarca da Alga'y.

3) Bio+: Visando o grande mercado promissor para microalgas em diversos segmentos industriais, e com perspectivas de gerar milhões de dólares, a *startup* Bio+ foi criada com o propósito de desenvolver um dispositivo de Internet das Coisas (IoT) para o monitoramento em tempo real de cultivos de microrganismos em escala variável. O objetivo é automatizar a coleta de dados, fornecê-los ao consumidor, bem como possibilitar o acompanhamento simultâneo do processo com apenas um único aparelho, o Bio+. A Figura 4 (C) apresenta a logomarca da *startup*, a qual encontra-se em fase de prototipagem.

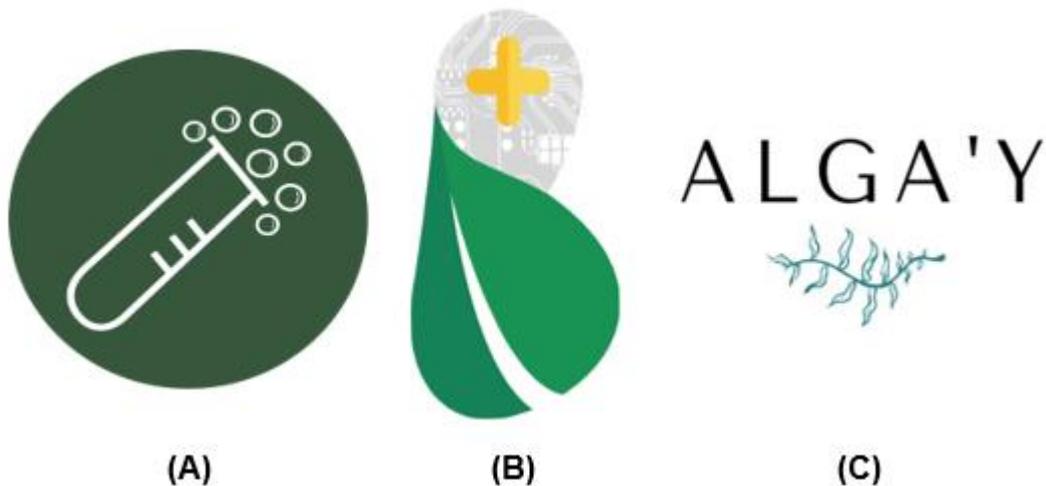


Figura 4. Logomarcas das *startups*. (A): *Green Bubbles*; (B): Bio+; (C): ALGA'Y

3. Modelo de negócio

Os modelos de negócios em empresas focam nas seguintes etapas: i) criação de valor, ii) entrega de valor e iii) captura de valor. Em todo modelo de negócio o que deve ser enfatizado é a geração de valor ao cliente, ou seja, cumprir as promessas do seu produto com excelência e além de superar expectativas. Para que isso aconteça, é preciso que a empresa tenha um processo de criação de valor, que é a base de um negócio rentável e duradouro. Ele é essencial para conquistar clientes, tornando-os promotores do negócio e fazendo-os crescer (OSTERWALDER, 2011).

Na área da biotecnologia, um ponto essencial é o conhecimento do seu público-alvo e entender qual é a real necessidade que eles têm para comprar esse tipo de produto. Para isso, o primeiro passo é definir exatamente a persona do seu tipo de negócio, que é a representação do seu cliente ideal, todas as informações que definam seus compradores, faixa etária, profissão, escolaridade, dentre outros aspectos. Em seguida, é preciso entrar em contato com potenciais clientes. Assim, é necessário fazer pesquisas e entrevistas para que as informações sobre o que eles requerem e o valor no produto venha direto da fonte. Seguindo o mesmo raciocínio, não se deve fazer especulações ou adivinhar o que os consumidores precisam, é necessário ouvir o cliente (REIS, 2019).

A partir de todas as informações coletadas, é possível encontrar os pontos de contato mais estratégicos para que seus clientes se sintam valorizados e compreendam que seu produto é uma troca de valor, e não um gasto (REIS, 2019). Usualmente, dentro da área da biotecnologia, o ponto de dificuldade está relacionado ao preço alto e baixo, com impacto imediato no cotidiano dos clientes, e é por isso que deve se ficar atento ao público alvo, que normalmente será voltado para pessoas que não focam no valor monetário, mas sim no impacto no meio ambiente. Um ponto que sempre pode ser trabalhado é mostrar a diferença positiva que esse tipo de ação pode contribuir em longo prazo (KATZ, 2018).

Após o valor ser criado, é necessário entregá-lo para seu cliente. Essa entrega, dentro do modelo de negócio, inclui todo o processo necessário para o cliente conhecer o seu produto e recebê-lo. Nessa parte, é considerando a estratégia de *marketing*, vendas e logística para a efetiva entrega do produto.

Para as *startups*, principalmente aquelas que estão iniciando seu negócio, o maior desafio é conseguir criar e executar uma estratégia de venda e de *marketing* adequada para o seu cliente. Durante essa etapa, pode ser realizada tanto uma prospecção passiva para a aquisição de público, quanto ativa. Ambos os tipos de prospecção possuem uma estratégia de venda e de *marketing*. Na prospecção passiva, o cliente busca a sua solução sem ter uma equipe de vendas. Para tal modelo, o ideal é ter sua estratégia de *marketing* alinhada com todas as etapas do seu funil de vendas. Assim, é necessário realizar a montagem da jornada do cliente (NETO, 2020). O funil de vendas de quatro etapas, assim como suas respectivas etapas, está representado na Figura 5.

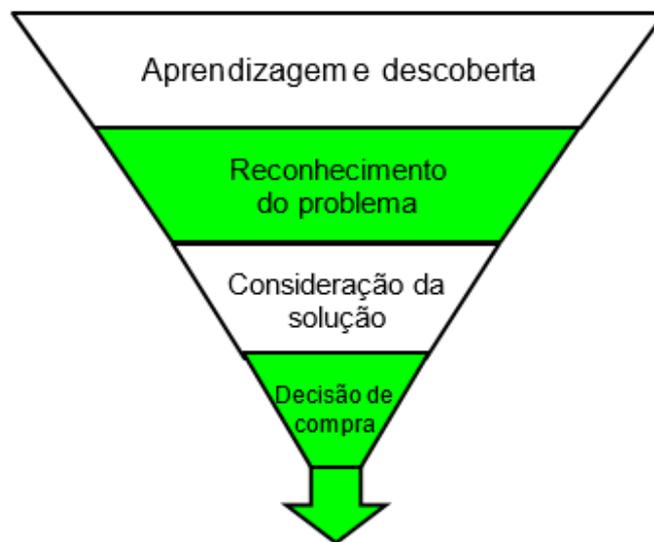


Figura 5. Funil de vendas.

Na prospecção ativa, tem-se uma equipe de vendas que vai até o cliente vendendo a solução. Para empresas “B2C” (Empresa para consumidor), as estratégias mais comuns são o e-mail *marketing* e *telemarketing*. Para empresas “B2B” (Empresa para empresas), a equipe de venda negocia diretamente com os *stakeholders* (partes interessadas) da sua solução (NETO, 2020).

Em empresas tradicionais, normalmente é realizada a prospecção da criação de valor, desenvolvimento do produto e a entrega para o cliente final. Para *startups* que utilizam metodologias ágeis, como *Scrum* e *Startup Enxuta*, após a etapa de entrega de valor do produto, é feito um *feedback* com o cliente.

A partir disso, são implementadas novas funcionalidades ou realizadas correções no produto, isso sendo feito em um processo cíclico (SUTHERLAND, 2019).

Por fim, a última etapa do modelo de negócio é a captura de valor. A captura de valor se dá pelo modelo de receita, e o modelo de receita é a forma que a *startup* monetiza o negócio. Existem dezenas de modelos de receita, sendo os modelos de negócios mais comuns para *startups*, na qual seria a venda recorrente e modelo de assinatura. Contudo, dependendo das características do seu negócio, principalmente do cliente, modelos inovadores podem ser um grande diferencial competitivo para a *startup* (ELLIS, 2018).

4. Conclusão

O campo da biotecnologia de microalgas se mostra vital para diversas aplicações industriais. Essa área, quando trabalhada desde o início da criação de um projeto de startup e utilizando metodologias ágeis, pode desenvolver a ideia de forma ao máximo assertiva com o auxílio da realização de pesquisa investigativa e escrita de um modelo de negócio. Para isso, deve-se seguir todas as etapas para a sua execução, as quais foram descritas neste capítulo. Assim, a *startup* é capaz “sair do papel” e ser validada no mercado. O NPDEAS, por exemplo, que por meio da aplicação da metodologia *Startup Experience*, projetou algumas *startups* que utilizam como matéria-prima principal as microalgas, e estão 100% idealizadas. Diante do apresentado, toda e qualquer *startup* desenvolvida sem um modelo de negócio propício ao crescimento, torna-se difícil se manter no mercado dos negócios. É imprescindível buscar frequentemente inovações na área projetada e capacitação contínua e qualificada para superar a fase de incertezas e alcançar um adequado faturamento.

5. Referências

AHMAD, A.; BANAT, F.; ALSAFAR, H.; HASN, S. W. Algae biotechnology for industrial wastewater treatment, bioenergy production, and high-value bioproducts. **Science of The Total Environment**, v. 806, 150585, 2022.

ANUCIAÇÃO, I. I. M.; FERNANDES, G. A. *As startups no ordenamento jurídico: uma leitura comparada dos ecossistemas de startups na Argentina, no Chile e no Brasil.* **Caderno de Ciências Sociais Aplicadas**, vol. 18, nº 32 jul/dez, 2021.

ASSIS, L. M. **Investimentos em Biotecnologia: Tendências para Observar de Perto.** Disponível em: <<https://biotechtown.com/blog/tendencias-biotecnologia/>>. Data de acesso: 25/9/2021.

BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B. Revisão: Biotecnologia de microalgas. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 26, n. 1, 2008, p. 9-20.

BOROWITZKA, M. A. Algal Biotechnology. In: SAHOO D., SECKBACH J. (Eds.), **The Algae World. Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology**, v. 26. Springer, Dordrecht, 2018.

BRASIL, 2010. Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana da Saúde. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Caracterização do Estado da Arte em Biotecnologia Marinha no Brasil.** Ministério da Saúde, Organização Pan-Americana da Saúde, Ministério da Ciência e Tecnologia. – Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

CHAMMASSIAN, R. G.; SABATIER, V. The role of costs in business model design for early-stage technology startups. **Technological Forecasting and Social Change**, v. 157, 120090, 2020.

ELLIS, S.; BROWN, M. Hacking Growth: A estratégia de marketing inovadora das empresas de crescimento mais rápido. **Rio de Janeiro: Alta Books**, p.241-272, 2018.

KATZ, A. B. B. **O desenvolvimento de modelo de negócios em empresa startup brasileira de biotecnologia.** Dissertação de Mestrado Profissional do Programa de Pós-Graduação em Empreendedorismo da Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2018.

MARCON, A.; RIBEIRO, J. L. D. How do startups manage external resources in innovation ecosystems? A resource perspective of startups' lifecycle. **Technological Forecasting and Social Change**, v. 171, 120965, 2021.

MARKETS AND MARKETS. Algae products market. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/algae-product-market-250538721.html>. Data de acesso: outubro de 21.

NETO, F. L. C. **O Impacto do Inbound Marketing em Empresas Prestadoras de Serviço em Natal/Rn: Um estudo de múltiplos casos**. Trabalho de Conclusão de Curso do Programa de Graduação em Administração na Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2020.

NEZAMMAHALLEH, H; THOMAS A. ADAMSII, F. G, MOHSEN, N, SEYED, A. S: Techno-economic and environmental assessment of conceptually designed *in situ* lipid extraction process from microalgae. **Algal Research**, v. 35, p. 547- 560, 2018.

OSTERWALDER, A.; PIGNEUR, Y. **Business Model Generation - inovação em modelos de negócios: um manual para visionários, inovadores e revolucionários**. Rio de Janeiro, RJ: Alta Books, p. 14-51, 2011.

REIS, E. **A startup enxuta**. Rio de Janeiro: Sextante, 2019, p. 43-60.

ROTHAERMEL, F. T.; DEEDS, D. L. Exploration and exploitation alliances in biotechnology: a system of new product development. **Strategic Management Journal**, v. 25(3), p. 201-221, 2004.

SAAD, J. MARTINELLI, S. MACHADO, L. S. SOUZA, C. R.B de. ALVARO, A. ZAINA, L: UX work in software startups: A thematic analysis of the literature. **Information and Software Technology**, p.140, 2021.

SANTI JR., C.; NEVES, G. T. **Chapter 10 - Startups and prominent business**. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. Microbial Biomolecules: Properties, Relevance, and their Translational Applications. Elsevier, p. 209-223, 2020.

SANTOS, A. R.; SCHEMIKO, I. S.; ROSA, P. A.; DAVOGLIO, B.; FREITAS, R. F.; MOREIRA, M. A. C.; SEVERO, I. A.; CUBAS, S. A.; VARGAS, J. V. C.; MARIANO, A. B. Extensão Tecnológica Inovadora para o combate ao COVID-19 através da Iniciativa *Startup Experience* da UFPR. **Revista Extensão em Foco**, n. 23, p. 216-235, 2021.

SEGERS, J. P. Biotechnology Business Models: Catch-22 or best of both worlds? In: **Working Paper, Hogeschool PXL**, Hasselt, Belgium, 2018.

SEVERO, I. A.; SIQUEIRA, S. F.; DEPRÁ, M. C.; MARONEZE, M. M.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E. Biodiesel facilities: What can we address to make biorefineries commercially competitive? **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 112, p. 686-705, 2019.

SEVERO, I. A.; dos SANTOS, A. M.; DEPRÁ, M. C.; BARIN, J. S.; JACOB-LOPES, E. Microalgae photobioreactors integrated into combustion processes: A patent-based analysis to map technological trends. **Algal Research**, v. 60, 102529, 2021.

STARTUP BASE: **Plataforma de base de dados oficial do ecossistema brasileiro de Startups**. Disponível em: <<https://startupbase.com.br/home>> Data de acesso: 20/9/2021.

SUTHERLAND J.; SUTHERLAND, J.J. **Scrum: a arte de fazer o dobro na metade do tempo**. Rio de Janeiro: Sextante, p. 179-209, 2019.

TAHER, D. M. **Biodiesel de microalgas cultivadas em dejetos suíno biodigeridos**. 2013. Dissertação de Mestrado do Programa em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

TAHER, D. M. **Validação experimental e otimização de um modelo matemático de sistema de fixação de emissões por cultivo de microalgas em fotobiorreatores industriais**. Tese de Doutorado do Programa em Engenharia e Ciência dos Materiais pela Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

TANVIR, R. U.; ZHANG, J.; CANTER, T.; CHEN, D.; LU, J.; HU, Z. Harnessing solar energy using phototrophic microorganisms: A sustainable pathway to bioenergy, biomaterials, and environmental solutions. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 146, 111181, 2021.

TELLES, E. C.; YANG, S.; VARGAS, J. V. C.; DIAS, F. G.; ORDONEZ, J. C.; MARIANO, A. B.; CHAGAS, M. B.; DAVIS, T. A genset and mini-photobioreactor association for CO₂ capturing, enhanced microalgae growth and multigeneration. **Renewable Energy**, v. 125, 985-994, 2018.

THOMPSON, F.; THOMPSON, C. **Biotecnologia Marinha**. Rio Grande: Ed. FURG, 855 p., 2020.

PACHECO-TORGAL, F. High tech startup creation for energy efficient built environment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 71, p. 618-629, 2017.

VIEIRA, H.; LEAL, M. C.; CALADO, R. Fifty Shades of Blue: How Blue Biotechnology is Shaping the Bioeconomy. **Trends in Biotechnology**, v. 38(9), p. 940-943, 2020.

WOHLGEMUTH, R. Bio-based resources, bioprocesses and bioproducts in value creation architectures for bioeconomy markets and beyond – What really matters. **EFB Bioeconomy Journal**, v. 1, 100009, 2021.

Autores

Flávio Júnior Santiago Silva*, Erick Cordeiro Kollross, Emeli Naisa Krebs, Valeria Cristina Pereira Antezana, Ihana Aguiar Severo, José Viriato Coelho Vargas, André Bellin Mariano

Universidade Federal do Paraná, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NDPEAS), Av. Cel. Francisco H. dos Santos, 100 - Jardim das Américas, Curitiba - PR, 81530-000. Brasil

* Autor para correspondência: flaviojrsantiago@gmail.com



www.meridapublishers.com

