

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

DÁGON MANOEL RIBEIRO

**CULTIVO DE *Chlorella vulgaris* EM DIFERENTES SISTEMAS DE
FOTOBIOREACTORES**

**DOURADOS - MS
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

DÁGON MANOEL RIBEIRO

**CULTIVO DE *Chlorella vulgaris* EM DIFERENTES SISTEMAS DE
FOTOBIORREATORES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado para
obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Universidade Federal da Grande Dourados
Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz
Co-orientador: Prof. Dr. Giuliano Marcelo
Dragone

**DOURADOS - MS
2013**

DÁGON MANOEL RIBEIRO

CULTIVO DE *Chlorella vulgaris* EM DIFERENTES SISTEMAS DE FOTOBIORREATORES

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Análise de Sistemas na Universidade Federal da Grande Dourados, pela comissão formada por:

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz
FCBA – UFGD

Prof. Dr. Emerson Machado de Carvalho
UEMS

Prof. Dr. Alessandro Minillo
UEMS

Dourados, 22 de Agosto de 2013.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus familiares, minha mãe Vera que sempre me apoiou, meu irmão Thiago que sempre foi um exemplo e que sempre me incentivou, meu avô Oscar que sempre me acordava e me dava todo apoio para que todos esses anos eu conseguisse ter a minha formação e também em memória a minha avó Henriqueta, onde grande parte das minhas características eu devo a ela.

Agradeço aos meus amigos, que foram meus colegas de salas, calouros, pessoal dos laboratórios, pessoas que fui conhecendo durante toda essa minha jornada e que por mais pequena que seja a sua participação em minha vida, todos foram importantes para que eu chegasse aonde cheguei.

Aos professores que sempre em meio a grandes dificuldades, nunca deixaram eu desistir, professores que fizeram de tudo e mais um pouco para que eu aprendesse algo, que eu me desenvolva para que eu possa me tornar uma profissional ainda mais qualificado.

A minha grande organização que pertença, a BSGI, onde todos os dias me ensina a me tornar um grande valor para a sociedade, a todos os membros da organização, ao Taiyo Ongakutai e ao meu grande mestre da vida, Daisaku Ikeda.

“Existe uma única estrada e somente uma, e essa é a estrada que eu amo. Eu a escolhi. Quando trilho nessa estrada as esperanças brotam, e, o sorriso se abre em meu rosto. Dessa estrada nunca, jamais fugirei.”

DAISAKU IKEDA

SÚMARIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	11
5. CONCLUSÃO	15
6. AGRADECIMENTOS.....	15
7. REFERÊNCIAS	15

CULTIVO DE *Chlorella vulgaris* EM DIFERENTES SISTEMAS DE FOTOBIOREATORES

Dágon Manoel Ribeiro¹, Dr. Marcelo Fossa da Paz², Dr. Giuliano Marcelo Dragone³,

¹ Acadêmico de biotecnologia – dagonribeiro@hotmail.com; ² Professor orientador UFGD; ³ Professor co-orientador
Universidade do Minho.

Resumo

As microalgas são a aposta para muitos processos biotecnológicos da nova geração, inclusive a produção de biocombustíveis. Diversas pesquisas vem sendo desenvolvidas para a otimização do processo, desde a alteração do meio de cultura até as mudanças na engenharia do cultivo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento celular, massa seca e o acúmulo de proteínas, lipídios e amido, testado em diferentes condições de fotobiorreatores para o cultivo das microalgas. O resultado visto foi que com algumas alterações no formato dos fotobiorreatores pode otimizar o cultivo, assim abrindo ampla possibilidades para planejamento de novos processos e utilizações de fotobiorreatores para uma produção viável de microalgas.

Palavras Chaves: Microalgas, Acúmulo de Amido, Biocombustíveis.

Abstract

The microalgae are one of the bet for new generation of biotechnological processes, including the production of biofuels. Several studies have been developed to optimization of this process. The objective of this research was to evaluate cell growth and quantification of dry biomass and analyze of protein, lipid and starch, tested under different conditions of photobioreactors for cultivation of microalgae. The result was seen that with some changes in the format of photobioreactors can optimize cultivation, thus opening wide possibilities for designing new processes and uses of photobioreactors for production microalgae.

Keywords: Microalgae, Accumulation of Starch, Biofuels.

1. INTRODUÇÃO

Novas tecnologias são necessárias para a solução de diversos problemas ambientais e econômicos e com a necessidade de geração de novos serviços e produtos existe a possibilidade de explorar as microalgas que são organismos unicelulares que tem a capacidade de se desenvolver necessitando de baixos níveis de nutrientes e diversas aplicações se tornando promissor nas pesquisas de biotecnologia. Atualmente, existem inúmeras aplicações comerciais de microalgas como: uso de microalgas para melhoria do valor nutricional de alimentos e ração animal devido à sua composição química, um papel crucial no domínio da aquicultura, incorporadas em produtos cosméticos e a produção de biocombustíveis (ABBASI; ABBASI, 2010).

A utilização das microalgas para a produção de biocombustíveis da terceira geração já vem sendo estudadas por diversos pesquisadores (DRAGONE; FERNANDES; VICENTE; TEIXEIRA, 2010). Micro-organismos com potencial de acumular biomassa apenas com a presença de luz, água e alguns poucos nutrientes e acompanhado da capacidade de absorção de dióxido de carbono e produção de oxigênio, as microalgas podem ser consideradas a produção de biocombustíveis ecologicamente sustentáveis (DEFANTI; SIQUEIRA; LINHARES, 2010).

Uma das grandes vantagens de produção de biodiesel utilizando microalgas se dá pelo fato de que algumas espécies possuem sua composição óleo que podem chegar até 70% e seria uma solução para problemas que acontecem na produção desse mesmo combustível utilizando plantas oleaginosas como a

soja, sem o risco de competição com a produção de alimentos e poderem ocupar áreas reduzidas construindo estruturas horizontais (CHISTI *et al*, 2007).

Outra opção em relação à produção de biocombustíveis com microalgas é à produção do bioetanol sendo que com pequenas mudanças no meio de cultura e alterando as concentrações de ureia e FeNa-EDTA consegue se obter um acúmulo oito vezes maior de amido que, posteriormente, pode ser quebrado, fermentado e usado na produção do etanol de microalgas e juntamente com a suplementação de nitrogênio no meio que pode acelerar o crescimento celular viabilizando a produção em massa de microalgas (DRAGONE *et al*, 2011).

Um dos fatores limitantes para o desenvolvimento desta linha de trabalho é a falta de projetos de engenharia que possibilitam uma melhor eficiência na produção em grande escala de microalgas sendo que necessita de um fator essencial para o cultivo que é a luz que deve ser bem distribuída por todo o sistema para favorecer o cultivo e o acúmulo de biomassa (RIBEIRO; GODOY; FONSECA; MINILLO, 2011.)

O conhecimento das melhores condições de cultivo é o primeiro passo para poder projetar ou planejar qualquer processo e nesse trabalho objetivou-se analisar as influências em relação a formatos e métodos de cultivo em diferentes biorreatores.

2. REVISÃO DE LITERATURA

De acordo com TABERNEIRO *et al* (2012) com uma superfície de 7.500 m² seria possível fabricar 10 mil toneladas de biodiesel por ano, todos estes resultados destacam o grande potencial do cultivo de microalgas. Cita também a necessidade de criação de um mercado de microalgas, onde não só o óleo, mas também a utilização de outros componentes das microalgas e a queima da biomassa para a geração de bioenergia.

Aproveitando a capacidade de absorção de CO₂, as microalgas como *Spirulina* LEB 18 e *Chlorella kessleri* que obtiveram um crescimento satisfatório com uma porcentagem de 18% de vasão por volume de CO₂ (ROSA *et al*, 2011), uma habilidade que pode ser usado na fixação de CO₂ emitido pelas atividades industriais, o que contribuindo assim para uma redução no aquecimento global.

A otimização dos fotobiorreatores é necessário para a exploração de potencial das microalgas para produção de compostos de interesse. Muitos testes de aumento de escala tem apresentado um significativo avanço tecnológico. Experimentos em baixa escala dá uma clara avaliação dos fatores como a luminosidade e a homogeneidade. Consequentemente experimentos a nível de bancada são propostos para medir as reações fisiológicas das células sob situações específica para poder ter um melhor entendimento (SASTRE *et al*, 2007).

A recuperação da biomassa das microalgas pode ser feito em várias etapas, com significativa variações nas taxas de fluxo de passagem da centrífuga. Estratégia que pode conferir uma diminuição de 82% nos custos de extração. Custos que podem ser reduzidos significativamente, 0,864 US\$ óleo x L⁻¹, incentivando assim a criação de novas estratégias para o cultivo (DASSEY; THEEGALA, 2013).

Novas tecnologias para a otimização de todo o processo são de grande importância para o desenvolvimento dessa produção, como melhorar a eficiência da extração de biomassa, BARRUT *et al* (2013) está desenvolvendo um elevador de gás de vácuo que se mostra um eficiente e económico método para a recuperação parcialmente microalgas reduzindo o custo da em 10 vezes comparada com a

centrifugação que é o método mais utilizado, o que abre perspectivas de desenvolvimento de novas tecnologias inovadoras.

A aeração com pequenas bolhas permite uma melhor homogeneidade, no entanto, essa mesma aeração pode danificar as células da microalgas devido ao pressão, causando rompimento celular. Mesmo assim vem sendo estudadas devido a possibilidade de alimentação do cultivo com CO₂ podendo diminuir o período no escuro. Mas já é comprovado que fotobiorreatores com aeração interna tem um grande potencial para o cultivo de microalgas e pesquisadores que estão à procura do entendimento da hidrodinâmica do cultivo de microalgas (RENGEL; ZOUGHAI; DRON; CLODIC, 2012).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A microalga utilizada foi a microalgas *Chlorella. vulgaris* (cepa P12). O inoculo usado foi preparado de acordo com estudos já realizado por Fernandes *et al.*, (2010) e o crescimento do inoculo foi realizado em fotobiorreatores de 500 m com um volume útil de 200 ml por 1 semanas. A fonte de carbono e a agitação foi fornecida através do arejamento com uma mistura de ar com 2% CO₂ a 0,4 vvm controlada por bluesense e com iluminação continua de 70 μmolxm²xs⁻¹ averiguada por um fotômetro.

O meio utilizado para o inoculo e para o cultivo nos fotobiorreatores foi descrito por DRAGONE *et al* (2011) sendo que favorece o acumulo de amido constituído por: 18.32 (NH₂)₂CO, 1.74 KH₂PO₄, 0.83 MgSO₄·7H₂O, 0.79 CaCl₂, 0.11 FeNa-C₁₀H₁₂O₈N₂, 0.017 MnCl₂·4H₂O, 0.013 H₃BO₃, 0.009 ZnSO₄·7H₂O, 0.004 CuSO₄·5H₂O, 0.002 CoSO₄·7H₂O, 0.0001 (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O e 0.0001 (NH₄)VO₃ em água destilada.

O experimento com os fotobiorreatores consistiu em analisar as diferenças no cultivo da microalga em diferentes condições de fotobiorreatores. Foram utilizados cinco condições de fotobiorreatores iniciando todos com a mesma concentração de microalgas de 2x10⁷ celxmL⁻¹. Os fotobiorreatores utilizados foram, fotobiorreator de coluna de bolhas de tubo liso agitado pneumaticamente de volume de 90mL (FLP90) e 250mL (FLP250), fotobiorreator de coluna de bolhas de tubo oscilatório agitado pneumaticamente de volume de 250ml (FCP250), fotobiorreator de coluna de bolhas de tubo oscilatório pistonado com amplitude de 0,7cm em duas velocidades, 250rpm (FCPIS(250)250) e 150rpm (FCPIS(250)250) (figura 1).

Todos os fotobiorreatores foram aerados igualmente com 6,5% de CO₂ e 0,53 vvm (volume de ar por volume de meio por minuto). Os crescimentos decorreram durante 7 dias realizando com repetições para obter um desvio padrão. Apenas foram recolhidas amostras no tempo inicial e final. A contagem foi realizada pelo método de contagem de 5 quadrantes extremos na câmara de Neubauer e utilizando a seguinte equação (Formula 1):

$$\text{Densidade (células/ml)} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ total de cel}}{\text{N}^{\circ} \text{ de Quadrades contados}} \times \text{Diluição} \times 25\text{E}4$$

Formula 1 – Calculo da concentração na camara de Neubauer

Para se determinar a concentração de biomassa (massa seca) foram retiradas amostras de 1,5 ml. A amostra foi filtrada em filtros de 0,2 μm. O restante foi recolhido por centrifugação, 4000 rpm por 10 min e liofilizado para a realização das análises químicas de amido, proteína e lipídios.

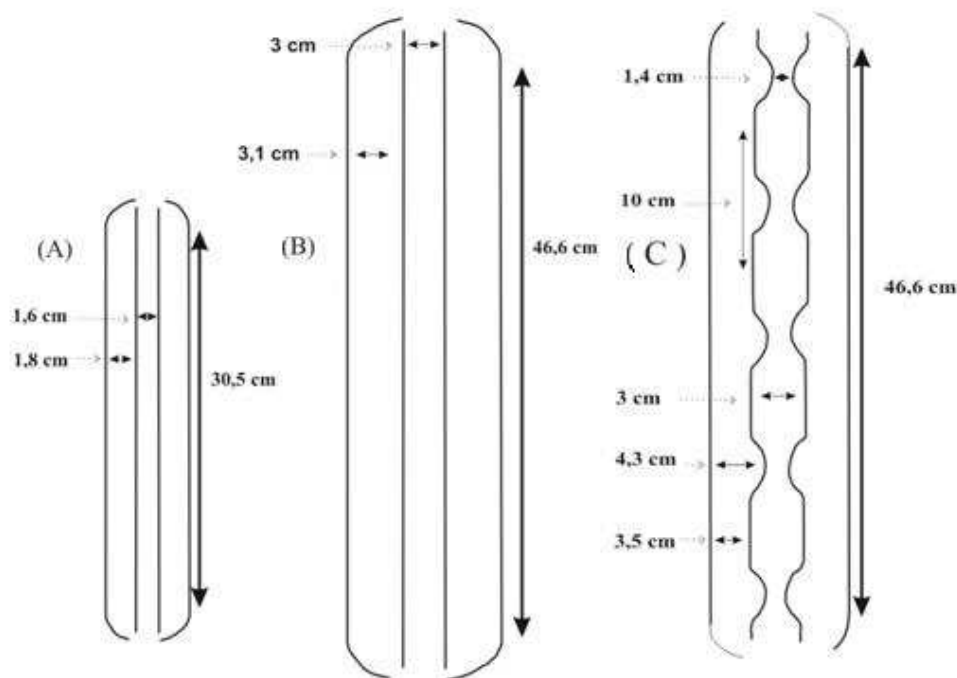


Figura 1 – Fotobiorreatores (A) FLP90, (B) FLP250 e (C) FCP250, FCPIS(250)250, FCPIS(150)250

O amido foi analisado através do método do Megazyme, onde ocorre a hidrólise do amido a glucose com ajuda de enzimas aminolíticas (α -amilase e amiloglicosidase). A biomassa liofilizada foi macerada, ressuspensa em etanol e incubada a 85°C por 5 minutos. A enzima α -amilase foi adicionada a cada amostra, que foram mantidas a 100°C durante 6 minutos. Após esse passo as amostras foram incubadas num banho a 50°C e a enzima amiloglicosidase foi adicionada atuando por 30 minutos. A glucose presente na amostra foi medida pelo método de glucose-oxidase. E a absorbância lida a 510 nanômetros.

As proteínas foram medidas pelo método de Bradford. As algas liofilizadas foram maceradas e misturadas com ácido H₃PO₄ (~0,15M) e incubadas a 100°C por 10 minutos. As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. E o sobrenadante foi diluído 1:20 para se aplicar ao método de Bradford. Após ter realizado a curva de calibração, utiliza uma placa de 96 poços para realizar a análise, poços contendo 10 μ l da amostra a ser analisada e 300 μ l de Coomassie Blue (Bradford) “Assay Kit” incubou-se por 10 min a temperatura ambiente e a ausência de luz e foi lida a absorbância a 596 nanômetros.

O teor de lipídios foi determinado pelo método de Folch onde as amostras foram homogeneizadas com uma mistura de clorofórmio-metanol 2:1 (vol/vol). A amostra foi centrifugada a 6000rpm por 10 minutos e recuperou-se a fase líquida. A fase líquida foi lavada com uma solução de KCL (0,88%), e centrifugou-se a baixa velocidade (2000rpm), para se separar as duas fases. Lavou-se a interfase por 3 vezes com uma mistura de clorofórmio-metanol-água (3:48:47 volxvol⁻¹). Para remover os resíduos presentes. O solvente foi removido por evaporação a vácuo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nos cultivos realizados se visualizou o crescimento da *C. vulgaris* nos diferentes sistemas de fotobiorreatores. No primeiro teste avaliou-se o crescimento biológico no FLP90, onde se esperava um maior crescimento celular, sendo que a área era menor, havia uma menos sobreposição das células gerando um maior contato com a luz artificial. O segundo teste de crescimento celular da *C. vulgaris* foi

utilizado o FLP250, o objetivo era manter o mesmo crescimento mesmo ocorrendo o aumento da escala, mantendo os fatores do cultivo, como agitação, adição dos gases, meio de cultura e temperatura.

Comparando os dois primeiros testes podemos constatar que o crescimento foi inferior, mesmo tendo repetindo todas as variáveis. As mesmas concentrações de meio, as mesmas concentrações de gases e vvm, o grande diferencial é que como o tamanho do fotobiorreator mudou e com isso a intensidade e a penetração de luz também foi alterada e gerou uma diminuição do desenvolvimento sendo que a luz é um dos fatores limitante para o crescimento da microalga. No FLP90 se obteve um crescimento celular de $2,99E+08$ célxmL⁻¹ e biomassa $13,6$ gxL⁻¹ e no FLP250 pode se visualizar que esse foi muito baixo do ideal, $5,38E+07$ célxmL⁻¹ e $5,96$ gxL⁻¹, obteve uma queda de mais de 80% na produtividade.

Após os testes inicial se buscou novas formas para poder aumentar o crescimento celular e o acúmulo de biomassa testando novos formatos de fotobiorreator para aumentar a homogeneidade do cultivo e possibilitar uma melhor entrada de luz. Foram testados uma diferente forma de fotobiorreator e uma diferente forma de agitação, podemos visualizar todos os cultivo no gráfico a seguir:

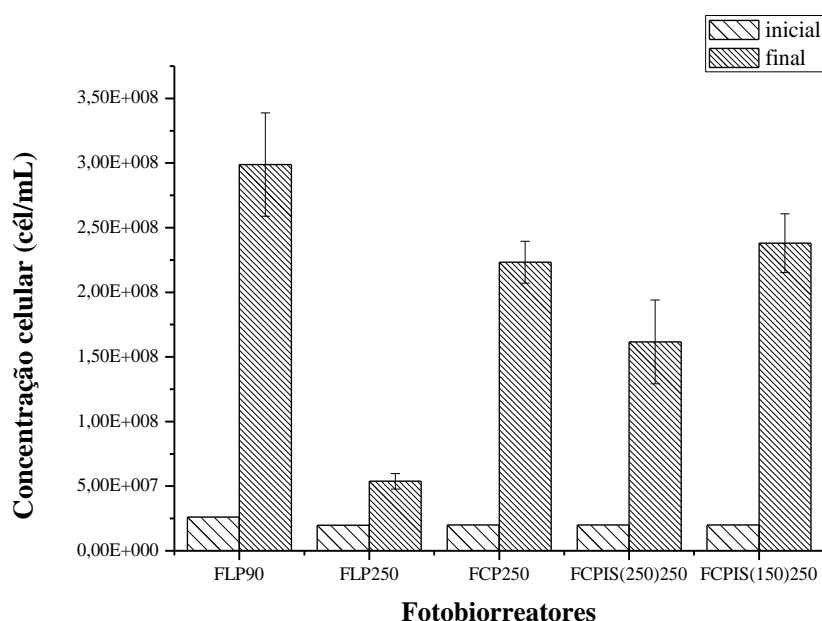


Figura 1. Concentração celular dos diferentes fotobiorreatores

Ao testar os novos formatos, já foi observado um aumento no crescimento celular de microalgas de acordo com o FLP250, isso se dá pelo fato da constrição que existe neste novo fotobiorreator testado, o volume ocupa uma maior área e conseqüentemente absorve maior luminosidade e esse novo formato possibilita uma melhor mistura do meio. Só com a mudança do biorreator já houve um aumento no crescimento celular e no acúmulo de biomassa como podemos observar no FCP250, $2,23E+08$ célxmL⁻¹ e $6,37$ gxL⁻¹, um aumento de 300% na produtividade comparado com FLP250.

Nos fotobiorreatores com constrição as bolhas de gases existentes são quebradas pelo formato que possui que funcionam como uma chicana para o cultivo, aumentando assim a dissolução dos gases no meio. Uma melhor dissolução dos gases possibilitando uma maior absorção de CO₂ pelas microalgas, que é um fator que sendo suplementado no meio controladamente é benéfico, e sem o controle pode ocasionar a formação de ácido carbônico que é prejudicial às microalgas.

Mesmo com o aumento da concentração das microalgas, em comparação com o FLP250, os outros cultivos continuavam baixos e a implementação do fluxo pistonado foi utilizado para poder ter uma maior quebra nas bolhas ocasionando uma melhor dissolução dos gases e homogeneidade do meio.

O cultivo pistonado com uma rotação de 250rpm, apresentou uma menor concentração celular, mas com um maior acúmulo de biomassa, isso se dá pelo fato que em agitação de 250rpm e as constrições do biorreator causa cisalhamento nas microalgas, ocorrendo o rompimento celular, que pode ser visualizado com a presença de clorofila no sobrenadante após a centrifugação.

No cultivo com rotação de 150rpm se analisou uma maior concentração celular, mas ainda com presença de clorofila após a centrifugação que é o indicador que houve o rompimento celular. O aumento da biomassa em ambos os cultivos de fluxos pistonados que podemos visualizar no gráfico 2, mostra o grande potencial que essa combinação pode ter em relação aos demais cultivos, podendo se discutir diferentes rotações em diferentes áreas e formatos, para evitar o cisalhamento das microalgas e otimizar os cultivo em larga escala.

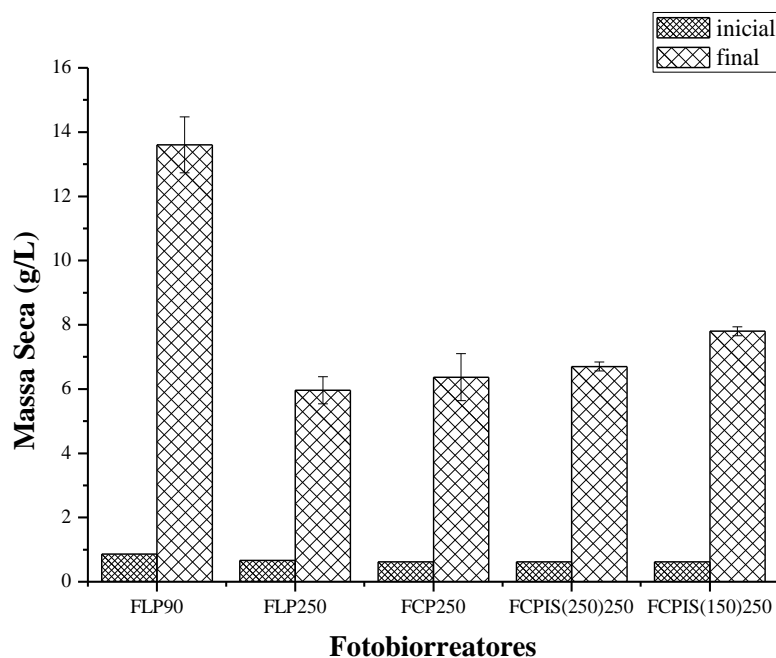


Figura 2. Massa Seca dos diferentes fotobiorreatores

O acúmulo de biomassa é importante pelo fato de quanto maior a biomassa, maior é o acúmulo de amido, proteínas e lipídios, que é o produto de interesse que está sendo medido nesses cultivos de microalgas Tabela1. A quantificação do amido é importante a ver o potencial desse cultivo para a produção de bioetanol, a quantificação de lipídios para a produção de biodiesel e as proteínas para diversas moléculas de interesse que podem ser potencializadas com esses processos.

Tabela 1 Quantificação em porcentagem de amido, proteína e lipídios da biomassa liofilizada dos cultivos.

Fotobiorreator	Amido (%)	Proteína (%)	Lipídios (%)
FLP90	43,81 ± 0,79	32,01 ± 1,37	10,24 ± 0,49
FLP250	27,21 ± 6,80	33,43 ± 0,67	9,95 ± 0,07
FCP250	33,13 ± 9,84	34,14 ± 1,24	9,60 ± 0,42
FCPIS(250)250	26,20 ± 2,71	33,88 ± 2,12	10,65 ± 0,49
FCPIS(150)250	34,25 ± 0,63	23,90 ± 2,20	14,75 ± 0,21

Em relação ao amido podemos visualizar que o FLP90 obteve uma maior concentração devido ao fato de que uma maior presença de luminosidade, uma melhor homogeneização e o meio que é propício para um maior acúmulo de amido, o cultivo obteve 43,81%, um valor maior do que o encontrado por DRAGONE *et al* (2011) que obteve um valor de 41% de acúmulo de amido sendo cultivados em apenas 50 ml.

Alguns outros fatores ainda podem ser agregados para um maior acúmulo de amido como mostrou CHOIX *et al* (2012) que demonstrou que tanto em cultivo heterotrófico ou autotrófico em conjunto com *Azospirillum brasilense* imobilizada promove uma acumulação de hidratos de carbono em duas espécies de *Chlorella* spp. principalmente, produzindo amido. Isso demonstra que *A. brasilense* é um fator biológico que também pode alterar e ser utilizado para o acúmulo de compostos de interesse nas microalgas.

BRANYIKOVA *et al* (2011) relata que a intensidade de luz é um dos fatores mais significativos para o acúmulo da taxa da síntese de amido e o seu conteúdo final, e que processos de divisão celular ocorrem uma demanda de energia e a diminuição de absorção de luzes. Uma maneira de produzir biomassa com aumento do teor de amido seria inibir a divisão celular ou algum outro processo para permitir que a luz seja dirigida para a síntese de amido.

As concentrações de proteínas se mostraram semelhantes em quase todos os sistemas, exceto no cultivo pistonado a 150 rpm, onde mostrou que um menor acúmulo, mas apresentou um maior acúmulo de amido em comparação com a rotação de 250rpm. Isso pode estar associado a uma menor rotação e uma melhor dissolução as microalgas podem absorver melhor os nutrientes do meio, e em uma maior rotação o estresse mais o rompimento celular das células se obtêm uma maior extração de proteínas no meio.

A maior taxa de lipídios foi vista no cultivo com o biorreator FCPIS(150)250, 14,75%, um cultivo onde existe uma melhor homogeneização e juntamente com o estresse que o pistão pode gerar faz com que haja uma maior taxa de lipídios, mas é importante salientar que o meio de cultura utilizado não favorecia o acúmulo de lipídios, diferente do trabalho de CHEN *et al* (2013) que cultivou *Chlorella sorokiniana* e obteve uma biomassa com 61% de concentração de óleo utilizando um meio de cultura favorável para essa finalidade.

A produtividade de um cultivo é o fator que determinará a eficiência de uma produção e poderá ser útil no planejamento de um processo industrial. Na Tabela 2 onde foi calculada a produtividade dos cultivos em diferentes fotobiorreatores considerando o resultado com o FLP90 como 100%, pode se calcular o quanto as otimizações nos sistemas de produções otimizaram o processo.

Tabela 2 Produtividade

Fotobiorreator	Produtividade
FLP90	100%
FLP250	18%
FCP250	74%
FCPIS(250)250	54%
FCPIS(150)250	79%

Se compararmos a produtividade de FLP250 com FCPIS(150)250 podemos analisar o aumento que ocorreu devido ao fato do fotobiorreator ter as constrações e ter uma agitação pistonada. Assim, validando a questão de que melhores engenharias poderiam suprir algumas necessidades no cultivo de microalgas.

De acordo com RASHID *et al* (2013) ainda é necessária uma intensa investigação para as aplicações no aumento de escala do cultivo de microalgas e são propostas uma maior otimização no pré-tratamento de cultivo, na extração e a secagem da biomassa o desenvolvimento uma análise economia e definir melhores rotas para uma otimização no acúmulo de compostos de interesse, assim possibilitando a utilização para a produção de biocombustível, geração de eletricidade, ração animal e tratamento de resíduos.

5. CONCLUSÃO

Podemos concluir que a luz é o fator externo mais determinante em relação a cultivo de microalgas em pequenas escalas. Mas com os resultados podemos ver que otimizações podem ser realizadas para o aumento da produtividade, e que a condição do cultivo interfere diretamente para a alteração do acúmulo de compostos de interesse nas microalgas.

6. AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPQ pela bolsa do Ciências sem Fronteiras que me possibilitou a realização do intercâmbio e a Universidade do Minho em Portugal que me ofereceu todo o suporte para o desenvolvimento deste trabalho.

7. REFERÊNCIAS

ABBASI T., ABBASI S.A.; Biomass energy and the environmental impacts associated with its production and utilization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2010; 14: (919–937).

BARRUT B. *et al.*; Separation efficiency of a vacuum gas lift for microalgae harvesting. *Bioresource Technology* 2013; 128: (235–240).

BRANYIKOVA, I.; MARSALKOVA, B.; DOUCHA, J.; BRANYIK, T.; BISOVA, K.; ZACHLEDER, V.; VITOVA, M.; Microalgae—Novel Highly Efficient Starch Producers. *Biotechnology and Bioengineering* 2011; 108.

CHEN, C.-Y.; *et al.* Enhancing microalgal oil/lipid production from *Chlorella sorokiniana* CY1 using deep-sea water supplemented cultivation medium. *Biochemical Engineering Journal* 2013; 77: (74– 81).

CHISTI, Y., *et al.*; Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 2007; 25: (294 – 306).

CHOIX, F.J. *et al.* Enhanced accumulation of starch and total carbohydrates in alginate-immobilized *Chlorella* spp. induced by *Azospirillum brasilense*: II. Heterotrophic conditions. *Enzyme and Microbial Technology* 2012; 51: (300– 309).

DASSEY, A.J., THEEGALA, C.S.; Harvesting economics and strategies using centrifugation for cost effective separation of microalgae cells for biodiesel applications. *Bioresource Technology* 2013; 128 (241–245),.

DEFANTI L. S., SIQUEIRA N. S., LINHARES P. C.; Produção de biocombustíveis a partir de algas fotossintetizantes. *Revista de divulgação do Projeto Universidade Petrobras e IF Fluminense*, 2010; 1: (11-21).

DRAGONE G. *et al.* Nutrient limitation as a strategy for increasing starch accumulation in microalgae. *Applied Energy* 2011; 88.

DRAGONE G., FERNANDES B., VICENTE A., TEIXEIRA J.; Third generation biofuels from microalgae. *Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. A. Mendez-Vilas (ed), 2010, (1355 – 1366).

FERNANDES B, DRAGONE G, TEIXEIRA J, VICENTE A. Light regime characterization in an airlift photobioreactor for production of microalgae with high starch content. *Appl Biochem Biotechnol* 2010.

RASHID, N.; *et al.* Recycling and reuse of spent microalgal biomass for sustainable biofuels. *Biochemical Engineering Journal* 2013; 75: (101–107).

RENGEL A., ZOUGHAIB, A., DRON D., CLODIC D.; Hydrodynamic study of an internal airlift reactor for microalgae culture. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 93 (117–129).

RIBEIRO D. M., GODOY H. C., FONSECA G. G., MINILLO A.; *BIOTECNOLOGIA SUSTENTÁVEL: POSSIBILIDADES DE UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DA PRODUÇÃO DE AÇÚCAR E ÁLCOOL PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL ATRAVÉS DE MICROALGAS*. VII Simpósio Brasileiro de Engenharia Física, Dourados-MS, 2011.

ROSA A. P. C. *et al.*; Carbon dioxide fixation by microalgae cultivated in open bioreactors. *Energy Conversion and Management* 2011; 52 (3071–3073).

SASTRE. R. R. *et al.* Scale-down of microalgae cultivations in tubular photo-bioreactors—A conceptual approach. *Journal of Biotechnology* 2007; 132 (127–133).

TABERNERO A. *et al.*; Evaluating the industrial potential of biodiesel from a microalgae heterotrophic culture: Scale-up and economics. *Biochemical Engineering Journal* 2012; 63 (104– 115,).