

# Bioprospecção em algumas espécies de microalgas do Nordeste do Brasil em relação ao seu uso potencial para produção de biodiesel

*Bioprospecting in some species of microalgae from the Northeast of Brazil in regarding to its potential use for biodiesel production*

Clediana Dantas Calixto<sup>1\*</sup>, Rene Pinto da Silva<sup>1</sup>, Everton Vieira da Silva<sup>1</sup>,  
Marco Aurélio Rodrigues de Melo<sup>2</sup>, Nelson Roberto Antoniosi Filho<sup>3</sup>,  
Cristiane Francisca da Costa Sassi<sup>4</sup>, Marta Maria da Conceição<sup>5</sup>, Roberto Sassi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Química – CCEN – Universidade Federal da Paraíba.

<sup>2</sup>Faculdade Internacional da Paraíba – FPB, João Pessoa -PB.

<sup>3</sup>Instituto de Química - Universidade Federal de Goiás, Goiânia - GO

<sup>4</sup>Departamento de Sistemática e Ecologia. – CCEN – Universidade Federal da Paraíba.

<sup>5</sup>Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional – Universidade Federal da Paraíba.

\*clediana\_dantas@hotmail.com

**Submetido em 24/07/2016; Versão revisada em 25/09/2016; Aceito em 26/09/2016**

## Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes espécies de microalgas isoladas de ambientes marinhos e de água doce da região nordeste do Brasil, em relação à sua capacidade de produção de biomassa e de acumulação de ésteres. A pesquisa também teve a intenção de caracterizar as mudanças no perfil de ácidos graxos de cada espécie e sua influência sobre as propriedades do biodiesel produzido. O desenvolvimento das culturas foi acompanhado por contagem celular e por fluorescência “in vivo” e a composição de ácidos graxos da biomassa foi determinada por CG-MS. Os resultados mostraram um uso potencial para a produção de biodiesel em *Pediastrum tetras*, *Scenedesmus acuminatus*, *Chlamydomonas* sp., *Lagerheimia longiseta*, *Amphora* sp., *Monoraphidium contortum*, *Chlorella* sp. e *Cosmarium* sp. Estas espécies mostraram elevada produtividade em biomassa (0,28 a 0,95 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) e conteúdos de ésteres mais elevados do que a soja (de 229,6 a 584,9 mg g<sup>-1</sup>).

**Palavras-chave:** Biocombustíveis, microrganismos fotossintetizantes, perfil de FAME.

## Abstract

This work aimed to evaluate different species of microalgae isolated from marine and freshwater environments from the Northeast of Brazil in regarding to its capacity of biomass production and accumulation of esters. The research also has the intention of characterize the changes in the fatty acid profile of each species and its influence on the properties of the produced biodiesel. The development of the cultures was accompanied by cell counts and by "in vivo" fluorescence analyses and the fatty acid composition of biomass were determined by GC-MS. The results showed a potential use for biodiesel production in *Pediastrum tetras*, *Scenedesmus acuminatus*, *Chlamydomonas* sp., *Lagerheimia longiseta*, *Amphora* sp., *Monoraphidium contortum*, *Chlorella* sp. and *Cosmarium* sp. These species showed high biomass productivity (0.28 – 0.95 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) and contents of the ester higher than the soybean (229.6- 584.9 mg g<sup>-1</sup>).

**Key words:** Biofuels, photosynthetic microorganisms, FAME profile.

## INTRODUÇÃO

O potencial e a perspectiva de desenvolvimento sustentável de fontes de energias renováveis têm recebido grande atenção nos últimos anos visando garantir combustível no futuro (SINGH, NIGAM e MURPHY, 2011). Os biocombustíveis representam uma alternativa energética promissora por serem renováveis e biodegradáveis, e emitirem menores quantidades de CO<sub>2</sub> para a atmosfera (CHISTI, 2007).

Quando derivados de microalgas, os biocombustíveis apresentam-se como líder no campo das pesquisas mundiais, uma vez que geram benefícios aos seres humanos e, principalmente, ao meio ambiente.

Uma vez processadas através de reações químicas ou biológicas, a biomassa das microalgas pode fornecer diferentes tipos de biocombustíveis: biodiesel, biohidrogênio, bioetanol, bioquerosene e biometano (DEMIRBAS, 2011). Todavia, atualmente o foco tem se concentrado na produção de biodiesel. O biohidrogênio também tem se popularizado com o seu potencial em aplicações modernas, como as células de combustível, enquanto o bioetanol e o biometano são considerados como parte de processos integrados (ONCEL, 2013).

Muitas vantagens justificam o uso das microalgas como promissoras na produção de biodiesel: a sua produção lipídica pode chegar até 70% da biomassa seca, dependendo da espécie e estado fisiológico em que esta se encontra (PRAGYA, PANDEY e SAHOO, 2013); a produtividade em lipídios por área cultivada é elevada quando comparadas com culturas oleaginosas; produzem co-produtos de alto valor agregado; para cultivo podem ser usadas fontes de nutrientes, tais como nitrogênio e fósforo, de uma variedade de águas residuais, bem como podem ser cultivadas em locais inóspitos, cujo solo não é favorável à prática agrícola convencional, através da implantação de fotobiorreatores, que possibilitam

ciclos contínuos de produção durante todo o ano (HU et al., 2008; SCOTT et al., 2010; WIJFFELS e BARBOSA, 2010). Entretanto, o biodiesel de microalgas ainda não é rentável a ponto de competir com o diesel fóssil, o que tem despertado uma gama de investigações para transformá-lo em um produto economicamente viável (BEHZADI e FARID, 2007; DEMIRBAS e DEMIRBAS, 2011).

A seleção de espécies de alto potencial biotecnológico é um aspecto importante a ser considerado, uma vez que pode levar à redução de custos no processo produtivo. Para ser competitiva como fonte de matéria-prima para produção de biocombustível, a espécie utilizada deve apresentar elevada eficiência fotossintética e produtividade lipídica acentuada, além de ter composição química adequada que proporcione um combustível de qualidade (JI et al., 2013). Tais fatores convergem para a necessidade da bioprospecção de espécies de microalgas, principalmente as regionais, já que a grande maioria destas ainda permanece química e metabolicamente inexplorada (SHEEHAN et al., 1998). O presente estudo teve o propósito de avaliar cepas de microalgas isoladas da região Nordeste do Brasil quanto ao seu potencial para produção de biodiesel, levando em consideração suas taxas de crescimento celular e sua composição de ésteres metílicos de ácidos graxos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Coleta e isolamento das cepas de microalgas

Amostras de água de diferentes ambientes lacustres dos estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará e Bahia foram coletadas em frascos de vidro e garrafas PET e transportadas em condições herméticas ao Laboratório de Ambientes Recifais e Biotecnologia com Microalgas (LARBIM/UFPB), onde alíquotas das amostras foram transferidas para balões de 250 mL contendo os meios de cultura WC (GUILLARD e LORENZEN, 1972),

Zarrouk (ZARROUK, 1966) e Conway (WALNE, 1970) e mantidos numa câmara de cultivo a 25 °C ( $\pm 1$  °C) dotada de sistema de iluminação, com fotoperíodo de 12 horas.

A partir da observação do crescimento celular procedeu-se o isolamento em microscópio binocular usando micropipetas capilares (LOURENÇO, 2006). Quando constatada a obtenção de culturas unialgais, estas foram codificadas e incorporadas ao Banco de Cultura de Microalgas do LARBIM/UFPB.

A identificação das espécies cultivadas foi feita com base em suas características morfológicas utilizando critérios diacríticos (HINDAK, 1990), a partir de observações efetuadas em microscópio Leica em vários aumentos. Foram utilizadas chaves dicotômicas constantes em manuais tradicionais de ficologia (GEITLER, 1932; KOMARÉK e ANAGNOSTIDIS, 2005) e dados publicados em artigos científicos e em sites específicos. No processo de identificação também foram utilizados manuais tradicionais de ficologia a exemplo dos trabalhos de Bicudo e Menezes (2006); Sant'anna et al. (2006); Bellinger e Sigeo (2010); e Franceschini et al. (2009).

### **Cultivo e produção de biomassa**

As cepas oriundas do banco de cultura foram inoculadas em balões de 6L contendo 5L de meio de cultivo sintético, com densidade celular inicial entre  $5 \cdot 10^3$  células mL<sup>-1</sup> e  $10^4$  células mL<sup>-1</sup>. Os experimentos foram desenvolvidos em sala climatizada a 25 °C  $\pm 1$  °C com fotoperíodo de 12h e aeração constante fornecida por um minicompressor de membrana RESUNAO2.

Os experimentos foram acompanhados por meio de contagem celular em câmara Sedgewick-Rafter para as células filamentosas e em câmara de Fuchs-Rosenthal para as demais, e por medidas de fluorescência *in vivo* em fluorômetro Turner Design 10005R para a obtenção das curvas de crescimento, sendo interrompidos no início da fase estacionária.

A velocidade de crescimento (k), que representa o número de divisões celulares da população em estudo por unidade de tempo (dia), foi determinada através da equação citada em Fogg e Thake (1987).

A produtividade de biomassa (PB), que se refere à concentração (g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) de biomassa microalgal acumulada no cultivo (GRIFFITS e HARRISON, 2009), foi determinada através da relação entre o rendimento de biomassa (RB) e a velocidade de crescimento (k).

Ao término de cada experimento a biomassa microalgal foi concentrada por centrifugação, em centrífuga refrigerada (NT 825) a 18°C, e 3500 r.p.m, congelada em Ultrafreezer (Terroni®) a -30 °C, seca em liofilizador (Terroni® LD1500) e mantida sob refrigeração para posteriores análises.

### **Análise cromatográfica dos ácidos graxos**

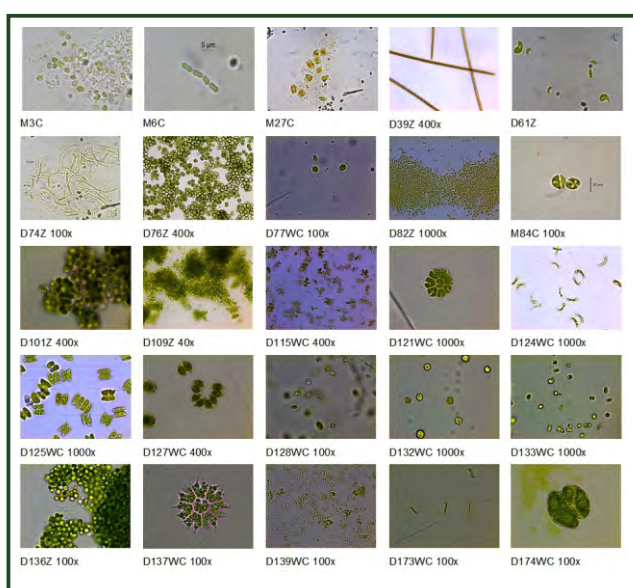
A conversão e a análise do perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES: Fatty Acid Methyl Esters) foram obtidos segundo o procedimento de transesterificação direta da biomassa microalgal, adaptado de Menezes et al., (2013). Os ésteres metílicos obtidos nesse processo foram identificados via cromatografia em fase gasosa usando um cromatógrafo a gás Agilent 7890, equipado com detector FID e injetor split/splitless. A coluna capilar utilizada foi a DB-WAX (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m); o forno operou sob temperatura inicial de 70 °C, aquecido a 10 °C min<sup>-1</sup> até 240 °C, e mantido por 13 minutos, sendo reaquecido a 5 °C min<sup>-1</sup> até 250 °C; o injetor foi mantido a temperatura de 310 °C. O volume de injeção foi de 2 $\mu$ L, no modo split, com razão de 10:1; o hidrogênio 5.0 foi utilizado como gás de arraste, à velocidade linear de 42 cm s<sup>-1</sup>, e o nitrogênio usado como gás auxiliar a 20 mL min<sup>-1</sup> (MENEZES et al., 2013). Os FAMES foram identificados pela comparação direta com amostras de oleaginosas de composição conhecida (soja), por injeção de padrões de referência de FAMES (NuCheckPrep®) e por análises via Cromatografia

Gasosa de Alta Resolução acoplada a Espectrometria de Massas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Identificação das espécies e características do cultivo

Foram isoladas 25 cepas de microalgas de distintos locais dos estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará e Bahia, (Figura 1). Destas, 17 cepas foram identificadas ao nível de espécie e 7 ao nível de gênero.



**Figura 1** – Microalgas isoladas de ambientes aquáticos do Nordeste brasileiro mantidas em condição de culturas uniaxiais no LARBIM/UFPB. Fonte: Própria do autor.

Clones das espécies *Synechococcus nidulans* (D82Z e D109WC), *Lagerheimia longiseta* (D128WC e D133WC) e *Pediastrum tetras* (D121WC e D137WC) (Tabela 1) foram isoladas de diferentes localidades e uma diversidade de espécies compondo uma mesma região foram constatadas. O que enaltece a necessidade da bioprospecção de microalgas para produção de biocombustíveis e/ou para produção de outros compostos, visto que, cada espécie apresenta propriedades químicas e biológicas peculiares, propiciando uma variedade de aplicações.

Considerando-se os valores médios da

constante de crescimento ( $k$ ), observa-se que ocorreram diferenças acentuadas entre as espécies, com valores máximos variando entre 0,81 e 1,74  $d^{-1}$  divisões/dia para as cepas D101Z, D109WC, D121WC e D132WC. E valores mínimos de 0,11, 0,12 e 0,14  $d^{-1}$  divisões/dia para as espécies D174WC, D128WC e D136Z, respectivamente.

Quanto ao rendimento da biomassa também foram observadas distinções entre as espécies. Sendo o maior rendimento, entre as espécies marinhas, apresentado pela M3C (*Synechocystis aquatilis*), com valor de 1310  $mg L^{-1}$ . E entre as espécies dulcícolas, os maiores valores registrados foram para as cepas D39Z, D74Z, D76Z e D125WC, variando entre 630-994  $mg L^{-1}$ . Vale ressaltar que espécies marinhas sempre contêm uma quantidade significativa de sal residual, o que interfere na quantificação final, podendo superestimar esse resultado.

Clones das espécies *Synechococcus nidulans* (D82Z e D109WC), *Lagerheimia longiseta* (D128WC e D133WC) e *Pediastrum tetras* (D121WC e D137WC) mostraram variações nos valores médios do  $k$  (de 0,41-1,11  $d^{-1}$ ; 0,12-0,66  $d^{-1}$ ; 0,81-0,64  $d^{-1}$ , respectivamente) e nas quantidades totais de biomassa (de 394-552  $mg L^{-1}$ ; 270-430  $mg L^{-1}$ ; 508-166  $mg L^{-1}$ , respectivamente). Esses dados são relevantes, visto que tanto as condições do habitat natural, como as condições de cultivo refletem em distintas respostas fisiológicas e metabólicas de cada clone.

Os dados apresentados demonstram viabilidade de algumas espécies para cultivo em larga escala, por estas apresentarem valores de taxas de divisão celular superiores a de espécies que vem sendo aplicadas largamente em produção em massa. A exemplo da *Dunaliella tertiolecta* reportada por Roleda et al., (2013) e da *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* e *Botryococcus braunii* cultivadas por Nascimento et al., (2013), que apresentaram valores respectivos de 0,53  $d^{-1}$ , 0,21  $d^{-1}$  e 0,14  $d^{-1}$ .

Tabela 1

Dados de procedência e parâmetros de crescimento das cepas de microalgas.

Fonte: Própria do autor

Cepa	Identificação	Procedência	k (d <sup>-1</sup> )	Rendimento biomassa (mg L <sup>-1</sup> )
M3C	<i>Synechocystis aquatilis</i>	Cabo Branco - PB	0,26±0,16	1310
M6C	<i>Romeria gracilis</i>	Cabo Branco - PB	0,36±0,17	528
M27C	<i>Aphanothece</i> sp.	Cabo Branco - PB	0,54±0,02	444
D39Z	<i>Plankthotrix isothrix</i>	Açude de Acauã - PB	0,33±0,12	630
D61Z	<i>Nephrochlamys subsolitaria</i>		0,39±0,07	594
D74Z	<i>Rhabdoderma lineare</i>	Barreiro Sacramento - PB	0,51±0,10	724
D76Z	<i>Chlorococcum cf hypnosporum</i>	Rio Quinturaré - PB	0,30±0,04	640
D77WC	Clorofíceas não identificadas	João Pessoa - PB	0,63±0,21	550
D82Z	<i>Synechococcus nidulans</i>	Açude da Quixaba, Frei Martinho - PB	0,41±0,06	394
M84C	<i>Amphora</i> sp.	Pitimbu - PB	0,48±0,23	668
D101Z	<i>Chlorella</i> sp.	ETE Mangabeira, João Pessoa - PB	1,74±0,31	545
D109WC	<i>Synechococcus nidulans</i>	Nascente Grau	1,11±0,16	552
D115WC	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	Frei Martinho - PB	0,60±0,13	610
D121WC	<i>Pediastrum tetras</i>	Frei Martinho-PB	0,81±0,26	508
D124WC	<i>Monoraphidium contortum</i>	Frei Martinho-PB	0,43±0,17	388
D125WC	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Balneário Pitimbu - PB	0,31±0,09	994
D127WC	<i>Staurastrum rotula</i>	Balneário Pitimbu - PB	0,42±0,13	278
D128WC	<i>Lagerheimia longiseta</i>	Balneário Pitimbu - PB	0,12±0,05	270
D132WC	<i>Chlamydomonas</i> sp.	Cachoeira da Purificação - BA	0,95±0,27	536
D133WC	<i>Lagerheimia longiseta</i>	Açude Malhada Limpa - RN	0,66±0,15	430
D136Z	<i>Chlorococcum</i> sp.	Açude Prainha, Frei Martinho-PB	0,14±0,07	482
D137WC	<i>Pediastrum tetras</i>	Açude São Anastácio - CE	0,64±0,41	166
D139WC	<i>Synechocystis</i> sp	Lago Hotel Village - PE	0,67±0,31	110
D173WC	<i>Monoraphidium contortum</i>	Lagoa Tapada - PB	0,45±0,21	284
D174WC	<i>Cosmarium</i> sp.	Açude Itapororoca - PB	0,11±0,03	364

## Produtividade de biomassa e quantificação de ésteres

Os maiores valores de produtividade de biomassa foram obtidos para as espécies D101Z ( $0,94 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ), D109WC ( $0,61 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) e D132WC ( $0,51 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ), Figura 2. Estas cepas não apresentaram as maiores concentrações de biomassa, mas refletem as maiores taxas de divisão celular. Por outro lado, destaca-se a D74Z ( $0,37 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) e a D125WC ( $0,31 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) pelo valor considerável de concentração de biomassa.

Como observado, a taxa de divisão celular e a concentração de biomassa nem sempre se relacionam, sendo necessário calcular a produtividade deste parâmetro para possibilitar a avaliação da produção de lipídeos/ésteres que serão extraídos a fim de convertê-los em biodiesel. Dessa forma, se faz necessário selecionar cepas com alta produtividade, capazes de sintetizar elevados teores lipídicos e que apresentem ainda uma parede celular pouco rígida para facilitar a extração dos biocompostos (LOURENÇO, 2006).

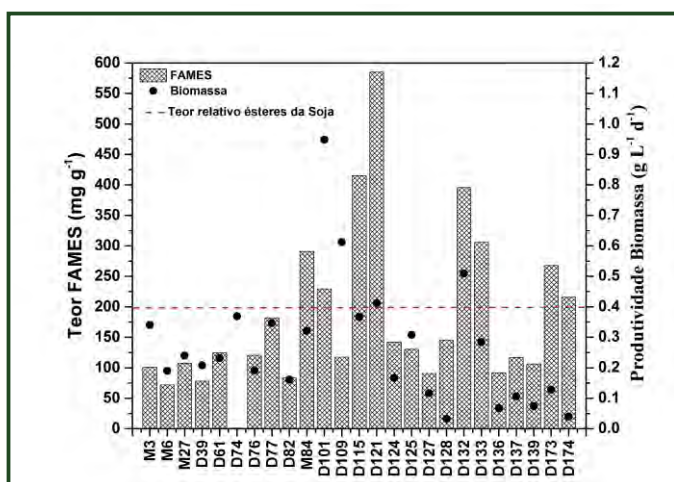


Figura 2 – Rendimento de ésteres e produtividade de biomassa das microalgas isoladas. Fonte: Própria do autor.

Elevados teores de óleos nem sempre correspondem a elevadas conversões em ésteres (YAO et al., 2015). Nessa perspectiva, a análise quantitativa de ésteres de ácidos graxos que compõem cada matriz é outro parâmetro de interesse para seleção de espécies produtoras de biodiesel. Dentre as espécies analisadas, verificou-

se que dezessete apresentaram teor de ésteres inferior à soja, que é a oleaginosa mais participativa na cadeia produtiva de biodiesel no Brasil, Figura 2. E estas espécies apresentaram ainda valores de produtividade de biomassa medianos, o que não as qualifica para propósitos de cultivo em massa.

As espécies M84C, D101Z, D115WC, D121WC, D132WC, D133WC, D173WC e D174WC, em contrapartida, se destacaram pelo teor de éster mais elevado que o quantificado para a soja ( $196,9 \text{ mg g}^{-1}$ ) (MENEZES et al., 2015). Esses valores servem como um importante indicativo, já que é este parâmetro que determinará a quantidade final do biocombustível a ser obtido.

Menezes et al., (2013) avaliaram a potencialidade de seis microalgas dulcícolas para a produção de biodiesel e constataram que destas, apenas uma apresentava teor de éster bastante elevado, cerca de 215% em relação a soja. As demais permearam entre 102% e 129%. Esses achados são inferiores aos valores obtidos em grande parte das espécies destacadas neste estudo.

Quando se faz uma análise comparativa entre o teor de ésteres e a produção de biomassa, constata-se que algumas espécies que apresentam elevados rendimentos em FAMES apresentam baixa produtividade de biomassa ou vice-versa, a exemplo principalmente da D74Z, D109WC, D173WC e D174WC. Este fato faz com que essas microalgas, na prática, não apresentem rentabilidade de ésteres ou biomassa tão elevada quando se avalia apenas o teor total de cada parâmetro, o que pode comprometer o cálculo da produtividade do biodiesel.

Em contrapartida, quando se avalia esse conjunto merecem destaque as espécies M84C, D101Z, D115WC, D121WC, D132WC e D133WC que apresentam teores de ésteres bem superiores à soja e produtividade de biomassa que varia de  $0,3$  a  $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Tendo em vista tais parâmetros, estas seriam espécies potenciais para produção de

biodiesel de microalgas.

Os dados obtidos mostram relevância quando se faz referência aos reportados por Ahmad et al., (2011), que ao avaliarem 30 espécies de microalgas de diferentes classes, constataram que apenas a *Nannochloropsis* sp. apresentava produtividade de biomassa e quantidade de lipídeos de forma satisfatória, para categorizá-la como boa opção para produção de óleo e biodiesel.

### Perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos

As 25 espécies analisadas apresentaram diversificações na composição de ésteres de ácidos graxos, tanto em relação às variações de comprimento das cadeias, geralmente entre quatorze e vinte quatro carbonos, quanto aos teores de insaturações (Tabela 2). Um perfil adequado de ésteres é desejável para que o biodiesel produzido alcance os padrões de qualidade exigidos internacionalmente (NASCIMENTO et al., 2013; PEREIRA et al., 2013; WIJFFELS e BARBOSA, 2010).

**Tabela 2**

Perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos das vinte e cinco espécies de microalgas.

Fonte: Própria do autor.

FAME (%)	Cepas de Microalgas																								
	M3	M6	M27	D39	D61	D74	D76	D77	D82	M84	D101	D109	D115	D121	D124	D125	D127	D128	D132	D133	D136	D137	D139	D173	D174
C14:0	8	0,2	1,3		1	35,9	2,1	0,8	1,5	9,7	2,6	2,6	0,5	1,8	3,5	1,4	3,3	0,8	1	1,8	1,3	2,6	1,2	0,9	1,6
C16:0	35,8	47,3	30,2	34,5	17,9	10,6	15,4	21,7	40,3	40,1	16,8	23,8	31,5	29,7	29,9	21,2	23,8	43,6	29,1	47,7	34,5	31,5	36,6	20,9	37,3
C16:1	23,1	15,1	36,1	6	2,3	41,4	7,5	0,5	18,6	32,8	7,4	3	1,4	1	2,4	0,3	1,4	0,9	6,2	4,6	1,6	3,6	0,3	0,8	0,4
C16:2			1		2,5		0,4	2,6		0,7	1,4	1,5	1,7	0,3	1,1	0,6	0,7	3,4	1,5	4,1	21,3	0,4	1,8	1,5	0,6
C16:3			2,4		0,7			4,8	0,8	1,4		9,5	1,6	4,2	11,8	10	18,3	2	1,3	1,1		6,1	3,5	14,7	7,6
C17:0	0,3	1,6						5,8	0,3	1,8	3,8	7,6		1,5	0,8	2,9	2,9	0,4				0,9	0,9	2	1,5
C17:1	0,4	3,9				0,7			0,6	0,2	8,7		2,2						5,6	1,6					
C18:0	0,9	0,6	1	1,9	1,2	0,6	0,8	2,3	0,4	0,7	1	0,8	9,8	2,8	0,7	1,3	1,9	0,9	5	3,7	0,6	1,3	3,5	0,3	1,5
C18:1	7	15,1	5	7,7	26,9	2,2	22,5	36	7,5	2,8	23,1	6,8	31,9	33,9	14,8	23,6	10,5	29,5	20,1	20,4	9,6	18,3	33,5	17,3	7,4
C18:2	3,9	9,9	7,7	30,1	10		8,6	13,1	18,7	1,7	11,2	20	10,9	8,2	4,9	16,1	8,1	7,7	6,5	4,5	19,9	6	9,2	10,5	19,8
C18:3	0,2	5,3	1,4	19,8	13,5		28,3	10,9	9,3	0,5	20,6	21,5	7,3	11,7	24,5	19,5	21,4	7,5	12,6	5,9	8,2	13,7	4,8	23,9	15,7
C18:4	0,2	5,3	0,9		5,6		0,4	0,6		0,9	0,2		0,8	1,8	2,6	2,4	3,7		9,5	0,5	0,6	11,3	1	5,2	2,5
C20:4	2,9						0,5			0,8	0,3										0,6				
C20:5	14,4												0,6									0,9		0,5	2,8
C21:0			11,2		0,5																				
C24:0					4,7																				
SFA	47,8	50,3	43,7	36,4	26,5	48	18,3	31,2	43,5	54,5	25,5	37,1	42	37,7	36,7	27,5	34,3	47,6	35,9	53,8	38,4	38,6	43,9	25,2	42,7
MUFA	30,5	34,1	41,1	13,7	32,2	52	30	36,8	27,7	36,5	40,8	10,4	35,7	35,5	18,4	23,9	13,5	31,8	32,1	29,5	11,6	23	35,8	18,5	8,3
DUFA	3,9	10,1	10,5	30,1	12,5		9	15,7	18,7	2,4	12,6	21,5	12,6	8,5	6	16,7	8,8	11,1	8	8,6	41,2	6,4	11	12	20,4
TUFA	0,2	5,3	3,8	19,8	15,9		29,2	15,7	10,1	1,9	20,6	31	8,9	15,9	36,3	29,5	39,7	9,5	13,9	7	8,2	19,8	8,3	38,6	23,3
PUFA	17,3		0,9		12,8		13,6	0,6		4,7	0,5		0,8	2,4	2,6	2,4	3,7		9,5	1,1	0,6	12,2	1	5,7	5,3

Quanto à composição, a espécie D74Z destaca-se por apresentar elevado teor de ácido mirístico (C14:0), (35,9%), enquanto as demais apresentam teores que permeiam entre 0,2% a 9,7%.

O ácido palmítico (C16:0) é o ácido predominante em grande parte das espécies, com valores entre 10% e 47,3%. Esse ácido pode ser utilizado como surfactante em produtos de limpeza e na produção de cosméticos, sendo sua principal fonte atualmente a palma (dendê) que produz cerca

de 40% (ZAMBIAZI et al., 2007).

O ácido palmitoléico também merece destaque por estar presente em todas as espécies variando desde 0,3% até 41,4%. Apresentando aplicações importantes para a indústria por constituir o grupo dos ácidos graxos essenciais. A literatura afirma que a concentração desse ácido diverge bastante entre as espécies, e que esta pode ser induzida em cultivos para acréscimos no seu teor. A exemplo da espécie *Chlorella minutíssima*, que quando cultivada em condições otimizadas

(35°C, 2500 lux, fonte de carbono  $\text{NaHCO}_3$  e concentração de  $\text{NO}_3^-$  de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$ ) propiciou um teor considerável deste ácido de 82,63% (COSTA et al., 2006).

O ácido hexadecatrienóico (C16:3) não é comumente encontrado em oleaginosas tradicionais, mas em algumas microalgas apresenta-se com valores consideráveis, a exemplo das espécies D127WC (18,3%), D173WC (14,7%), D124WC (11%) e D125WC (10%). Este ácido, em relação ao biodiesel, pode causar problemas de estabilidade, mas apresenta potencialidade em aplicações nutricionais por fazer parte do grupo dos  $\omega$ -3. Fato este que demonstra a viabilidade destas espécies, já que o consumo de  $\omega$ -3 obtido de microalgas é benéfico para o desenvolvimento humano, e para a prevenção de problemas coronários, câncer, diabetes, fibrose cística, artrites, asma, esquizofrenia e depressão (VON SHACKC, 2008; FERREIRA et al., 2013).

O ácido esteárico (C18:0), que tem predominância em diversas oleaginosas, é encontrado em concentrações irrisórias nas microalgas avaliadas, com exceção da espécie D115WC (9,8%). Contudo, esses valores podem ser elevados para outras cepas de microalgas, a exemplo de *Cyanobacterium aponinum* e *Phormidium* sp. analisadas por Karatay e Dönmez (2011), que apresentaram teores de 29,4% e 47,6%, respectivamente.

Os ácidos insaturados oléico, linoléico e linolênico são encontrados em elevados teores na maioria das espécies, ressaltando-se os valores para o linolênico que é encontrado em até 28% nas microalgas, o qual se mostra extremamente propenso aos processos oxidativos do óleo e, conseqüentemente, do biodiesel produzido.

A M3C (*Synechocystis aquatilis*) é uma espécie com potencialidade para indústria alimentícia e farmacêutica por conter 14% de eicosapentaenóico (EPA - C20:5), extremamente importante dentro do grupo dos ômega. O ácido

estearidônico (C18:4), também se destaca para estas aplicações, sendo encontrado com valores consideráveis nas espécies D137WC (11,3%) e D132WC (9,5%), em quantidades superiores ao obtido em óleo de peixe, por exemplo. (MOURA et al., 2006).

A cepa M27C apresentou 11,2% de C21:0 (ácido heneicosanóico) e a D61Z 4,7% de C24:0 (ácido lignocérico), ácidos de cadeia saturada longa, composição que não é comum em culturas oleaginosas terrestres, e que pode conferir problemas de fluxo ao biodiesel produzido por essas microalgas. As cadeias longas saturadas apresentam facilidade de acoplamento de suas estruturas e propensão à nucleação e cristalização a baixas temperaturas. Mas, em contrapartida estas podem propiciar índices de cetano elevados para o biocombustível produzido (KNOTHE, 2008).

Ao analisar quantitativamente as amostras quanto ao teor de saturação verifica-se que as espécies M6C, M84C e D133WC apresentam mais que 50% de ésteres saturados. Merecendo destaque ainda, a M3C, a D74Z e a D128WC que apresentam valores próximos, mas não superiores a este quantitativo. Estes elevados teores de saturação propiciam biodiesel com elevada estabilidade, mas em contrapartida pode gerar um combustível com problemas de fluidez (LÔBO et al., 2009).

Ao avaliar em conjunto os teores de ésteres saturados e monoinsaturados devem ser elencadas as espécies M3C, M6C, M27C, D74Z, D82Z, M84C, D115WC, D121WC, D132WC, D133WC e a D139WC que apresentam teores entre 70 e 85% e demonstram viabilidade para produção de biodiesel. A associação desses dois grupos confere maior estabilidade oxidativa ao combustível obtido devido a menor presença de insaturações, que são sítios de ataque do oxigênio ou de outros agentes que desencadeiam as reações radiculares que degradam o biodiesel. Além do que, a presença de uma ligação dupla propicia melhora no desempenho

das propriedades de fluxo do combustível (PARK et al., 2008)

Nascimento et al., (2013) avaliaram várias estirpes de microalgas e identificaram *Ankistrodesmus falcatus*, *Coelastrum microporum*, *Chlorella vulgaris* e *Botryococcus terribilis* com perfil de ácido graxo predominantemente saturado, e as *Desmodesmus brasiliensis*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, e *Botryococcus braunii* majoritariamente monoinsaturado. Os mesmos autores inferiram ainda que duas espécies *Chlamydomonas* sp. e *Scenedesmus obliquus* apresentaram um total de ácidos saturados e monoinsaturados em torno de 90%, valor este superior ao encontrado para a *Chlamydomonas* sp. (D132WC) e as espécies de *Scenedesmus* (D115WC e D125WC) relatadas no presente estudo.

Quando se avalia o teor de TUFA e PUFA das microalgas constata-se teores em torno de 40% em algumas cepas, como a D76Z, D124WC, D127WC e D173WC. Esses valores são extremamente elevados para um biodiesel, visto que estas estruturas propiciam susceptibilidade à oxidação e, conseqüentemente, menor tempo de estocagem e problemas no funcionamento dos motores, fato que discriminaria estas cepas como não potenciais para produção de biodiesel.

Elevados teores de ésteres poli-insaturados também foram observados para microalgas que são relatadas na literatura como fontes de matéria-prima potencial para a produção de biodiesel, tais como *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella tetiolecta* e *Neochloris oleabundans* (GOUVEIA e OLIVEIRA, 2009). Vale ressaltar que essas microalgas podem agregar valor ao processo produtivo do biodiesel, caso esses compostos forem destinados à indústria farmacêutica ou de alimentos.

## CONCLUSÕES

Ao analisar as vinte e cinco espécies isoladas

neste estudo, constatou-se que todas apresentam significância em algum parâmetro analisado. Contudo, para produção de biodiesel destacam-se as espécies M84C, D101Z, D115WC, D121WC, D132WC e D133WC, por reunirem elevadas taxas de crescimento celular, concentração de biomassa e teor de ésteres superior à soja, além de apresentarem uma composição de ácidos graxos favoráveis para a produção de biodiesel que se adequam às normatizações de qualidade especificadas pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, A. L.; YASIN, N. H. M.; DEREK, C. J. C.; LIM, J. K. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v.15, p.584–593, 2011.
- BEHZADI, S.; FARID, M. M. Review: examining the use of different feedstock for the production of biodiesel. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v.2, p.480–486, 2007.
- BELLINGER, E. G.; SIGEE, D. C. Algas de água doce: Identificação e uso como bioindicadores. **Journal of Applied Phycology**, v.25, n.4, p. 265-1266, 2010.
- BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. Gêneros de algas de águas continentais do Brasil. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2006.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.
- COSTA, J.A. V.; RADMANN, E. M.; CERQUEIRA, V. S. E.; SANTOS, G. C. E.; CALHEIROS, M. N. Perfil de ácidos graxos das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Chlorella minutíssima* cultivadas em diferentes condições. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.17, n.4, p.429-436, 2006.
- DEMIRBAS, A.; DEMIRBAS, M.F. Importance of

- algae oil as a source of biodiesel. **Energy Conversion and Management**, v.52, p.163–170, 2011.
- DEMIRBAS, M. F. Biofuels from algae for sustainable development. **Applied Energy**, v.88, p.3473-3480, 2011.
- FERREIRA, S. P.; SOUZA-SOARES, L.; COSTA, J. A. V. Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 275-287, 2013.
- FRANCESCHINI, I. M.; BURLIGA, A. L.; REVIERS, B.; PRADO, J. F.; REZIG, S. H. Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- FOGG, G.E.; THAKE, B. Algae Cultures and Phytoplankton Ecology. third ed. The University of Wisconsin Press Ltd., London, 1987.
- GEITLER, L. Cyanophyceae. In: RABENHORST, L. **Akademische Verlags- gesellschaft**, Leipzig, v. 14, p.1196, 1932.
- GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A. C. Microalgae as raw material for biofuels production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, p. 269-274, 2009.
- GRIFFITHS, M.J.; HARRISON, S.T.L. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. **J. Appl. Phycol**, v.21, p.493-507, 2009.
- GUILLARD, R. R. L.; LORENZEN, C. J. Yellow-green algae with chlorophyllidc. **Journal of Phycology**, v.8, p.10-14, 1972.
- HINDAK, F. Studies on the Chloroccal Algae (Chlorophyceae). Bratislava: Veda Publishing House of The Slovak Academy of Sciences, p.225, 1990.
- HO, S. H.; LAI, Y. Y.; CHIANG, C. Y.; CHEN, C. N. N.; CHANG, J. S. Selection of elite microalgae for biodiesel production in tropical conditions using a standardized platform. **Bioresource Technology**, v.147, p.135–142, 2013.
- HU, Q.; SOMMERFELD, M.; JARVIS, E.; GHIRARDI, M.; POSEWITZ, M.; SEIBERT, M.; DARZINS, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. **Plant Journal**, v.54, p.621–639, 2008.
- JI, F.; HAO, R.; LIU, Y.; LI, G.; ZHOU, Y.; DONG, R. Isolation of a novel microalgae strain *Desmodesmus* sp. and optimization of environmental factors for its biomass production. **Bioresource Technology**, v.148, p.249–254, 2013.
- KARATAY, S. E.; DÖNMEZ, G. Microbial oil production from thermophile cyanobacteria for biodiesel production. **Applied Energy**, v.88, n.11, p.3632–3635, 2011.
- KNOTHE, G. “Designer” biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. **Energy & Fuels**, v. 22, n. 2, p. 1358-1364, 2008.
- KOMARÉK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprokaryota. Teil: Oscillatoriales. In : BÜDEL, B.; KRIENITZ, L.; GÄRTNER, G.; SCHAGERL, M. **Süßwasserflora von Mitteleuropa** München: Elsevier Spektrum Akademischer Verlag. p.759, 2005
- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: quality parameters and analytical methods. **Química Nova**, v.32, n.6, p. 1596-1608, 2009.
- LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. 1. ed. São Paulo: Rima, 2006.
- MENEZES, R. S.; LELES, M. I. G.; SOARES, A.T.; FRANCO, P. I. M.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; SANT’ANNA, C. L.; VIEIRA, A. A. H. Avaliação da potencialidade de microalgas dulcícolas como fonte de matéria-prima graxa para a produção de biodiesel. **Química Nova**, v.13, n.1, p.10-15, 2013.
- MENEZES, R. S.; SOARES, A. T.; LOPES, R. G.; MAGNOTTI, C.; DERNER, R. B.; MORI, C. C.; VIEIRA, A. A. H.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Evaluation of fatty acid composition of the microalgae *Choricystis minor* var. minor according to two different nutrient feeding strategies. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 7, p. 043117, 2015.

- MOURA, J. M. L. N.; GONÇALVES, L. A. G.; GRIMALDI, R.; SOARES, M. S.; RIBEIRO, A. P. B. Otimização das Condições de Produção de Ésteres Etilícos a partir de Óleo de Peixe com Elevado Teor de Ácidos Graxos  $\omega$ -3. **Química Nova**, v. 29, n.5, p.956-959, 2006.
- NASCIMENTO, I.; MARQUES, S.; CABANELAS, I.; PEREIRA, S.; DRUZIAN, J.; SOUZA, C.; VICH, D.; CARVALHO, G.; NASCIMENTO, M. Screening microalgae strains for biodiesel production: lipid productivity and estimation of fuel quality based on fatty acids profiles as selective criteria. **BioEnergy Research**, v.6, p.1–13, 2013.
- ONCEL, S. S. Microalgae for a macroenergy world. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.26, p.241–264, 2013.
- PARK, J. Y.; KIM, D. K.; LEE, J. P.; PARK, S. C.; KIM, Y. J.; LEE, J. S. Blending effects of biodiesels on oxidation stability and low temperature flow properties. **Bioresource technology**, v.99, n.5, p.1196-1203, 2008.
- PEREIRA, H.; BARREIRA, L.; CUSTÓDIO, L.; ALROKAYAN, S.; MOUFFOUK, F.; VARELA, J.; ABU-SALAH, K.; BEN-HAMADOU, R. Isolation and fatty acid profile of selected microalgae strains from the Red Sea for biofuel production. **Energies**, v.6, n.6, p.2773–2783, 2013.
- PRAGYA, N.; PANDEY, K. K.; SAHOO, P. A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v.24, p.159–71, 2013.
- ROLEDA, M. Y.; SLOCOMBE, S. P.; LEAKEY, R. J.; DAY, J. G.; BELL, E. M.; STANLEY, M. S. Effects of temperature and nutrient regimes on biomass and lipid production by six oleaginous microalgae in batch culture employing a two-phase cultivation strategy. **Bioresource Technology**, v.129, p.439–449, 2013.
- SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; AGUJARO, L. F.; CARVALHO, L. R.; SOUZA, R. C. R. Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras. Rio de Janeiro: Interciência. 2006.
- SCOTT, S. A.; DAVEY, M. P.; DENNIS, J. S.; HORST, I.; HOWE, C. J.; LEA-SMITH, D. J.; SMITH, A. G. Biodiesel from algae: challenge and prospects. **Current Opinion in Biotechnology**, v.21, p.277–286, 2010.
- SHEEHAN, J.; DUNAHAY, T.; BENEMANN, J.; ROESSLER, P. A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program: biodiesel from algae. NREL/TP-580-24190, National Renewable Energy Laboratory, USA, 1998.
- SINGH, A.; NIGAM, P. S.; MURPHY, J. D. Mechanism and challenges in commercialisation of algal biofuels. **Bioresource Technology**, v.102, p.26–34, 2011.
- VON SHACKC, C. Omega-3 fatty acids: antiarrhythmic, proarrhythmic or both? **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 11, p. 9-94, 2008.
- WALNE, P. R. Studies on the food values of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. **Minist. Agric. Fish. & Food**, London. v. 25, n. 5, p.62, 1970.
- WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J. An outlook on microalgal biofuels. **Science**, v.329, p.796–799, 2010.
- YAO, L.; GERDE, J. A.; LEE, S. L.; WANG, T.; HARRATA, K. A. Microalgae lipid characterization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.63, p.1773-1787, 2015.
- ZAMBIAZI, R. U. I. C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M. W.; MENDONÇA, C. B. Fatty Acid Composition Of Vegetable Oils And Fats. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 111-120, 2007.
- Z A R R O U K , C . **C o n t r i b u t i o n a l'etuded'unecyanophycee: influence de divers facteurs physiques etchimiquessur la croissance et la photosynthese de Spirulina maxima (Setch et Gardner) Geitler**. Theises. Faculty of Science.Universite des Paris; 1966.