



## Microalga *Scenedesmus acuminatus* em meios de cultivo visando à produção de biodiesel

### *The Scenedesmus acuminatus microalgae in culture media aiming at the production of biodiesel*

Yohanna Jamilla Vilar de Brito<sup>1</sup>, Thiago Santos de Almeida Lopes<sup>2</sup>, Whelton Brito dos Santos<sup>3</sup>, Amanda Laurentino Torquato<sup>4</sup>, Vera Lúcia Antunes de Lima<sup>5</sup>, Weruska Brasileiro Ferreira<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda em Engenharia Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, +5583999709520, [yohannajvb@gmail.com](mailto:yohannajvb@gmail.com). <sup>2</sup>Doutorando em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, [thiago.s.16@hotmail.com](mailto:thiago.s.16@hotmail.com). <sup>3</sup>Doutorando em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, [wheltonbrt@gmail.com](mailto:wheltonbrt@gmail.com). <sup>4</sup>Doutoranda em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, [amanda.torquato02@gmail.com](mailto:amanda.torquato02@gmail.com). <sup>5</sup>Professora Titular do Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, [antuneslima@gmail.com](mailto:antuneslima@gmail.com). <sup>6</sup>Professora Efetiva do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, [weruska\\_brasileiro@yahoo.com.br](mailto:weruska_brasileiro@yahoo.com.br).

#### ARTIGO

Recebido: 25/03/2019  
Aprovado: 16/02/2020

*Palavras-chave:*  
Microalgas  
Biocombustíveis  
Águas residuais

*Key words:*  
Microalgae  
Biofuels  
Residual waters

#### RESUMO

O biodiesel tem-se destacado como uma das opções mais viáveis para promover a gradativa redução do consumo de combustíveis fósseis. Neste contexto, as microalgas surgem como matéria-prima promissora, uma vez que apresentam produtividade de lipídios superior à das oleaginosas utilizadas na produção deste biocombustível, além da capacidade de biorremediação de águas residuárias e de grande absorção de CO<sub>2</sub>. Contudo, o elevado custo dos nutrientes empregados na preparação dos meios de cultivos dificulta a implementação em escala real. Este estudo teve como objetivo avaliar o crescimento da microalga *Scenedesmus acuminatus* em três meios de cultura: dois sintéticos, Bold's Basal Medium (BBM) e Wright's Cryptophyte (WC), e um alternativo, com efluente de tratamento anaeróbico de esgoto doméstico do reator tipo Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB), a fim de minimizar os custos e viabilizar a produção de biodiesel. De acordo com os resultados obtidos, o cultivo com efluente de UASB obteve a maior densidade celular e não apresentou diferenças estatisticamente significativas em relação aos meios sintéticos, o que revela uma alternativa viável de cultivo. Diante disso, concluiu-se que a utilização de resíduos líquidos oriundos do tratamento anaeróbico de esgoto doméstico pode aumentar a viabilidade dos cultivos com vistas à produção de biodiesel, uma vez que permitem redução de custos ao substituir os meios sintéticos.

#### ABSTRACT

Biodiesel has stood out as one of the most viable options to promote the gradual reduction of consumption of fossil fuels. In this context, microalgae appear as promising raw material, since they have a higher lipid yield than the oleaginous ones used in the production of this biofuel, as well as the bioremediation of wastewater and high absorption of CO<sub>2</sub>. However, the high cost of nutrients used in the preparation of culture mediums makes it difficult to implement on a real scale. The objective of this study was to evaluate the growth of the microalga *Scenedesmus acuminatus* in three culture medium: two synthetic, Bold's Basal Medium (BBM) and Wright's Cryptophyte (WC), and one alternative culture with anaerobic effluent from the domestic sewage of the Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor, in order to minimize costs and to make production viable of biodiesel. According to the results obtained, the UASB effluent culture obtained the highest cell density and did not show statistically significant differences in relation to the synthetic media, which reveals a viable culture alternative. In view of this, it was concluded that the use of liquid waste from the anaerobic domestic sewage treatment can increase the viability of the crops for the production of biodiesel, since they allow cost reduction by replacing synthetic media.



## INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se intensificado a busca por energias renováveis que minimizem os impactos ambientais e a geração de gases poluentes, advindos da queima de combustíveis fósseis. Neste sentido, pode-se destacar o biodiesel, que é produzido a partir de recursos renováveis e vincula segurança energética à proteção ambiental, uma vez que reduz a emissão de gases do efeito estufa e, assim, combate os efeitos do superaquecimento global (FERREIRA et al., 2013).

Dentre as matérias-primas que podem ser utilizadas na geração deste biocombustível, uma que tem adquirido relevância na comunidade científica são as microalgas, cujo potencial é realçado por seu alto rendimento por hectare, baixo custo de manutenção e rápido crescimento. Além disso, estes microrganismos possuem a capacidade de absorver grande quantidade de dióxido de carbono atmosférico e de fontes poluentes, e sua biomassa apresenta teor de lipídios superior à das culturas vegetais comumente utilizadas (FERREIRA et al., 2013; MENEZES et al., 2013).

Segundo Chisti (2008) as microalgas são responsáveis pela produção primária de pelo menos 60% de oxigênio da Terra. O número exato de espécies ainda é desconhecido, contudo, pesquisas indicam que podem existir cerca de 200.000 até alguns milhões. Ao realizarem fotossíntese, produzem lipídios de maneira mais eficiente que as plantas terrestres, transformando energia solar em matéria orgânica (SAFI et al., 2014).

A composição química dos ácidos graxos de algumas microalgas é similar à dos encontrados nas oleaginosas usualmente utilizadas na geração de biodiesel, como soja e canola (MENEZES et al., 2013). A escolha adequada da espécie envolve diversos fatores, como velocidade de crescimento, produtividade de biomassa e teor lipídico, que são diretamente influenciados pelo meio de cultura, intensidade luminosa, temperatura, salinidade, pH, fotoperíodo e idade do cultivo (CAMPOS et al., 2010).

De modo geral, os cultivos de microalgas podem ser de três tipos: autotróficos, quando a luz é utilizada como fonte de energia e o CO<sub>2</sub> como fonte de carbono; heterotróficos, realizados em ausência de luz, onde compostos orgânicos são usados como fonte energética e de carbono; e mixotróficos, em que a fotossíntese é a principal fonte de energia, mas também ocorre adição de compostos orgânicos e CO<sub>2</sub> no meio de cultura (PEREZ-GARCIA et al., 2011). Dentre eles, o cultivo mixotrófico apresenta diversas vantagens, incluindo maior crescimento celular (produtividade de biomassa de 3 a 10 vezes maior que nos sistemas autotróficos), maior absorção de CO<sub>2</sub> e ausência de fotoinibição (KIRROLIA et al., 2013; CHANDRA et al., 2014).

Além do potencial para geração de biodiesel, as microalgas podem ser empregadas no tratamento de efluentes, uma vez que promovem biorremediação de águas ao absorver contaminantes e nutrientes solúveis em quantidades maiores do que precisam para seu desenvolvimento (MULBRY et al., 2009). Este processo apresenta diversos benefícios em relação a outros aplicados no tratamento de águas residuárias, como a produção de biomassa que pode ser utilizada para produção de energia. Para demonstrar a viabilidade desta tecnologia, Novoveská et al. (2016)

implantaram uma planta piloto em Daphne, Alabama (EUA), capaz de tratar 189.000 L de efluente por dia, em fotobiorreatores *offshore* com 4.046,8 m<sup>2</sup> de área. A estação recebe CO<sub>2</sub> e esgoto doméstico e os transforma em água limpa, combustível líquido e condicionador de solo.

Dentre os principais desafios dos cultivos de microalgas em larga escala estão os custos de produção, onde aproximadamente 35% são para elaborar o meio de cultivo (BAUMGARTNER et al., 2013). Diante disso, o uso de efluentes surge como uma alternativa de baixo valor econômico capaz de substituir os meios de cultura sintéticos.

Estudos relatam que as algas verdes ou clorofíceas são as mais promissoras para geração de biodiesel, sendo os gêneros *Chlorella*, *Chlamydomonas* e *Dunaliella* os mais utilizados. No entanto, as espécies de *Scenedesmus* e *Chlorella* vêm sendo apontadas nos últimos anos como as mais eficientes no processo de fixação de CO<sub>2</sub> acoplado ao tratamento de águas residuárias e à síntese lipídica (XIN et al., 2010; TANG et al., 2011; BLERSCH et al., 2013).

A *Scenedesmus* constitui uma potencial fonte de óleo para a produção de biodiesel devido à sua elevada atividade metabólica (produção de 10 a 25% de óleo). Este gênero pertence à família Scenedesmaceae, ordem Chlorococcales, classe Chlorophyceae e divisão Chlorophyta (LEE et al., 2009). Possui clorofila *a* e *b*, xantofilas (luteína e prasinoxantina) e os carotenóides  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . O produto fotossintético de armazenamento é o amido, que é composto por amilose e amilopectina e, ao contrário de outras algas, é formado dentro do cloroplasto (REYNOLDS, 2006). Conforme Baumgartner et al. (2013), a *Scenedesmus* é uma microalga de fácil obtenção e tem sido empregada na produção de biomassa e no tratamento de águas residuárias.

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho da microalga *Scenedesmus acuminatus* em três meios de cultura diferentes – WC, BBM e efluente de UASB – visando à produção de biodiesel, adotando como parâmetros o número de células em função do tempo, a velocidade específica de crescimento, o tempo de geração e a produtividade de biomassa.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Microalga *Scenedesmus acuminatus*

O estudo foi realizado no Laboratório de Saneamento Ambiental, localizado no Centro de Ciências e Tecnologia (CCT) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), onde foram utilizadas cepas da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Figura 1), fornecidas pelo Laboratório de Tecnologia de Bioativos (LABTECBIO) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

### Procedimento experimental

Os cultivos foram realizados em triplicata com a utilização dos meios de cultura BBM, WC e efluente de reator UASB. A aclimação foi realizada em cepário, à temperatura de 26 ± 2 °C, agitação através da injeção direta de ar comprimido e iluminação por meio de lâmpadas fluorescentes de 40 W, que proporcionaram uma iluminação de 4.000 lúmens por 12 horas diárias.

**Figura 1.** Fotomicrografia da microalga *Scenedesmus acuminatus* em ampliação de 400x.



Fonte: Autor (2020).

Os meios de cultura sintéticos utilizados para o cultivo da microalga *S. acuminatus* foram o WC, desenvolvido por Guillard e Lorenzen (1972), e o BBM, recomendado pelo Centro de Cultura de Algas e Protozoários de Cambridge, suplementado com 0,30 g.L<sup>-1</sup> de extrato de levedura. Também foi usado como meio de cultura o efluente de tratamento anaeróbio de esgoto sanitário oriundo de reator UASB, fornecido pela Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários (EXTRABES). O efluente apresentou Demanda Química de Oxigênio (DQO) de 452 mg.L<sup>-1</sup>, pH 8,0 e foi filtrado, para retenção de sólidos suspensos que poderiam interferir nos cultivos, e armazenado sob refrigeração.

### Parâmetros avaliados

O crescimento das microalgas foi determinado através da relação entre a concentração celular, estimada por meio da microscopia óptica (aumento de 400x) e o tempo de cultivo. A contagem de células foi realizada em triplicata em uma câmara de Neubauer, onde o número de células, em cel.mL<sup>-1</sup> foi determinado pela média geométrica das três contagens. O tempo de cultivo foi expresso pela quantidade de dias decorridos desde o início da inoculação (período de adaptação – fase lag) até o alcance máximo da concentração celular (fase estacionária). Cada experimento teve duração de 10 dias.

A velocidade de crescimento é diretamente proporcional à concentração de microrganismos em um dado instante. A fração pela qual a população cresce na unidade de tempo é dada por  $\mu_x$ , que representa a velocidade específica de crescimento e tem unidade de tempo expressa em h<sup>-1</sup>. Na fase exponencial (ou logarítmica) a velocidade específica de crescimento é constante e máxima, sendo  $\mu_x$  igual a  $\mu_{máx}$  e pode ser determinada através da Equação 1 (SCHMIDELL et al., 2001).

$$\ln X = \mu_{máx}(t - t_i) + \ln X_i \quad (\text{Eq. 1})$$

A representação de  $\ln(x)$  versus o tempo de cultivo, na fase exponencial, resulta em uma reta com coeficiente angular igual à velocidade específica máxima de crescimento  $\mu_{máx}$ . A fase exponencial também é caracterizada pelo tempo de geração ( $t_g$ ), que é o tempo necessário para dobrar o valor da concentração celular ( $x = 2x_i$ ). O tempo de geração foi calculado através da Equação 2 (SCHMIDELL et al., 2001).

$$t_g = \frac{\ln 2}{\mu_{máx}} = \frac{0,693}{\mu_{máx}} \quad (\text{Eq. 2})$$

As análises de produtividade da biomassa cultivada em laboratório foram realizadas em triplicata no início e no fim dos experimentos. Amostras de 50 mL de cultivo eram separadas e centrifugadas, descartando o sobrenadante, e a biomassa resultante era transferida para cápsulas de evaporação, previamente secas (em estufa a 105 °C) e pesadas. Em seguida, as cápsulas contendo biomassa eram postas para secagem em estufa na temperatura de 60 °C até atingir peso constante, para posterior pesagem. A produtividade de biomassa foi determinada pela diferença entre os pesos da biomassa seca no início e no fim de cada cultivo, dividida pelo tempo total do experimento (10 dias).

### Tratamento estatístico dos dados

Os dados foram expressos com média e desvio padrão. As comparações entre os meios de cultivo foram realizadas por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, realizados no software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da Figura 2, pode-se observar que a *S. acuminatus* apresentou rápida adaptação em meio BBM, onde partiu de uma população de 7,28 x 10<sup>5</sup> cel.mL<sup>-1</sup> para 1,94 x 10<sup>7</sup> cel.mL<sup>-1</sup>, no nono dia de cultivo. No meio WC, o número de células máximo obtido foi 1,49 x 10<sup>7</sup> cel.mL<sup>-1</sup>, no oitavo dia. O cultivo apresentava, inicialmente, concentração de 8,66 x 10<sup>5</sup> cel.mL<sup>-1</sup>. Já o cultivo realizado em efluente de UASB iniciou com uma densidade celular de 7,97 x 10<sup>5</sup> cel.mL<sup>-1</sup> e, no décimo dia, chegou a 2,54 x 10<sup>7</sup> cel.mL<sup>-1</sup>, apresentando boa adaptação e taxa de crescimento.

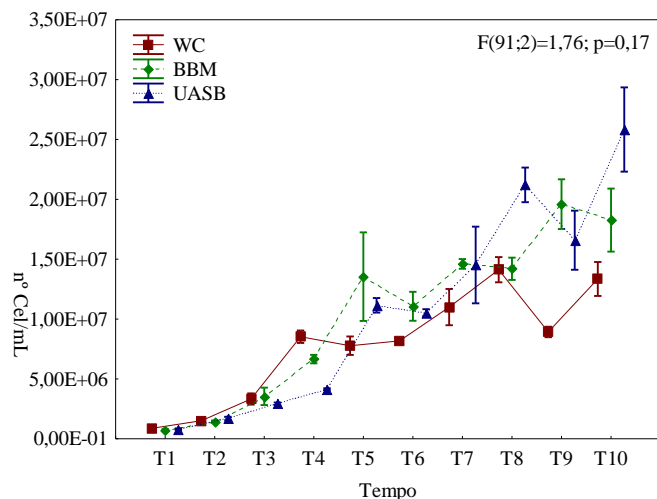
De acordo com o experimento conduzido por Baumgartner et al. (2013), observou-se que o gênero *Scenedesmus* não desenvolve um estágio estacionário. Portanto, ela passa da fase de crescimento linear diretamente para a fase de morte celular. Este acontecimento pode ser observado nos cultivos, ocorrendo picos de produção celular seguidas de um decaimento na concentração de células.

Em estudos realizados por Menezes et al. (2013), cultivos de cepas de *S. capitaus* foram realizados em diferentes meios de cultura e atingiram no décimo dia de cultivo densidade máxima de 6 x 10<sup>6</sup> cel.mL<sup>-1</sup>, no meio LC Olico, e 3,8 x 10<sup>6</sup> cel.mL<sup>-1</sup>, no meio WC, valores inferiores aos obtidos no atual estudo.

O crescimento microalgal apresentou maiores valores no cultivo realizado com efluente de reator UASB, contudo, não foram observadas diferenças significativas entre os três meios de cultura utilizados (p-valor = 0,17 e F (91,2) = 1,76), conforme Figura 2. Fato semelhante foi observado no estudo de Vieira et

al. (2014), onde o efluente doméstico se mostrou como excelente meio alternativo para a *Chlorella vulgaris*, uma vez que proporcionou o aumento da concentração celular quando comparado ao meio sintético.

**Figura 2.** Curvas de crescimento da *Scenedesmus acuminatus*, em diferentes tempos de cultivo nos meios BBM, WC e efluente de UASB.



Conforme Franco et al. (2013), as microalgas são consideradas, em sua diversidade, como organismos flexíveis quanto ao habitat, sendo encontradas tanto em ambientes úmidos terrestres, quanto em ambientes aquáticos de água doce, salobra e salgada. Tal flexibilidade pode ser notada pela adaptação da *S. acuminatus* em efluentes de tratamento anaeróbico de esgoto doméstico sem o uso de meios sintéticos.

A Tabela 1 apresenta os valores da produtividade de biomassa, velocidade específica de crescimento e tempo de geração da *S. acuminatus*, nos três meios de cultivo utilizados no estudo.

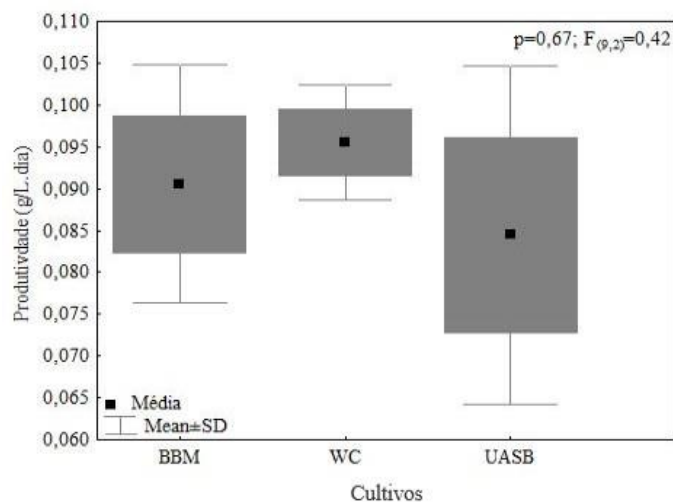
**Tabela 1.** Produtividade de biomassa, velocidade específica máxima de crescimento e tempo de geração da microalga *Scenedesmus acuminatus* nos meios de cultura BBM, WC e efluente de reator UASB.

Meio de cultura	Produtividade de biomassa (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )	Velocidade específica máxima (h <sup>-1</sup> )	Tempo de geração (h)
BBM	0,091	0,03	23,10
WC	0,096	0,036	19,25
Efluente de UASB	0,084	0,025	27,29

A partir da Tabela 1, observou-se que o meio WC promoveu o melhor crescimento da *S. acuminatus* em relação aos parâmetros avaliados. No entanto, estatisticamente (Figura 3), foi possível constatar que não houveram diferenças significativas ( $p$ -valor = 0,67 e  $F(9,2) = 0,42$ ) entre os resultados obtidos nos diferentes meios utilizados. Isso ressalta o potencial do efluente de UASB como meio de cultura para a *S. acuminatus*, uma vez que o mesmo proporcionou um desenvolvimento microalgal

similar aos alcançados com os meios sintéticos, específicos para o cultivo de microalgas.

**Figura 3.** Variação da produtividade de biomassa da *Scenedesmus acuminatus* nos três meios de cultura.



Baumgartner et al. (2013) cultivaram a microalga *S. acuminatus* em três meios de cultivo – MC (*Medium for Chlorella ellipsoidea*), DM (*Detmer's Medium*) e NPK (*Nitrogen:Phosphorus:Potassium*) – e obtiveram maior produtividade de biomassa no meio MC (0,081 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>). Já Oliveira (2013) estudou a produtividade de biomassa da *Scenedesmus* sp., cultivada em meio Chu, e atingiu valores de 0,062 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>. Em comparação com este estudo, os valores da produtividade de biomassa nos meios BBM, WC e efluente de UASB foram superiores aos das referências supracitadas. Isso ressalta a potencialidade do efluente de UASB como meio de cultura alternativo para redução dos custos dos cultivos de *S. acuminatus*, visando a produção de biodiesel.

Uma das características do efluente de UASB que possibilita seu uso como meio de cultura da *S. acuminatus* é seu pH alcalino (8,0), que se aproxima do pH dos meios sintéticos (7,5-9,0). O pH do meio de cultura é conhecido por ter grande influência no crescimento e na produção da biomassa de microalgas, uma vez que seu pH citosólico é neutro, ou ligeiramente alcalino, e suas enzimas celulares são sensíveis ao pH e podem se tornar inativas em condições ácidas (TRIPATHI et al., 2015). O pH está diretamente ligado com o bom funcionamento celular das microalgas e por isso o seu controle é de vital importância para o melhor desenvolvimento dos cultivos.

Tripathi et al. (2015) cultivaram *Scenedesmus* sp. em meio de cultura BG-11 e analisou a influência do pH alterando-o numa faixa entre 7,0 e 10,0, onde a microalga obteve maior produtividade em pH 8,0, mostrando que seu meio de cultivo deve ser alcalino. Chiranjeevi e Mohan (2016) também verificaram maior produção de biomassa em pH alcalino (8,5), que em pH ácido (6,0). Tais estudos reforçam a compatibilidade do efluente de UASB como meio de cultura para microalgas, com relação ao parâmetro pH.

Além disso, o efluente de UASB apresenta boa disponibilidade de nutrientes (nitrogênio e fósforo) para o desenvolvimento microalgal, visto que o tratamento anaeróbico

não os remove de forma satisfatória do esgoto doméstico (CHERNICHARO, 2007). Por fim, o uso de efluentes para o cultivo de microalgas pode ser considerado como uma alternativa de destinação mais adequada destes resíduos do ponto de vista ambiental, visto que os mesmos, se lançados em corpos hídricos, podem comprometer a qualidade da água, prejudicar os ecossistemas e ocasionar problemas de saúde pública.

## CONCLUSÃO

A microalga *Scenedesmus acuminatus* se desenvolve de forma equiparada nos três meios, BBM, WC e efluente de UASB, conforme parâmetros cinéticos e produtividade de biomassa.

O efluente de UASB possui potencial para ser utilizado como meio de cultura da referida espécie microalgal, visando a produção de biodiesel, o que promove a redução de custos dos cultivos, além da destinação ambientalmente adequada do efluente, que servirá para a geração de um produto com valor agregado.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo financiamento do projeto, à Universidade Estadual da Paraíba pela estrutura para realização dos experimentos e ao Laboratório de Tecnologia e Bioativos da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo fornecimento da cepa de microalga utilizada neste estudo.

## REFERÊNCIAS

BAUMGARTNER, T. R. S.; BURAK, J. A. M.; KOGIKOSKI, M. E.; SEBASTIEN, N. Y.; ARROYO, P. A. Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 11, n. 2, 2013.

BLERSCH, D. M.; KANGAS, P. C.; MULBRY, W. W. Turbulence and nutrient interactions that control benthic algal production in an engineered cultivation raceway. *Algal Research*, v. 2, n. 2, p. 107-112, 2013. [10.1016/j.algal.2013.01.001](https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.01.001)

CAMPOS, V. B.; BARBARINO, E.; LOURENÇO, S. O. Crescimento e composição química de dez espécies de microalgas marinhas em cultivos estanques. *Ciência Rural*, v. 40, n. 2, p. 339-347, 2010. [10.1590/S0103-84782010005000009](https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000009)

CHANDRA, R.; ROHIT, M. V.; SWAMY, Y. V.; MOHAN, S. V. Regulatory function of organic carbon supplementation on biodiesel production during growth and nutrient stress phases of mixotrophic microalgae cultivation. *Bioresource technology*, v. 165, p. 279-287, 2014. [10.1016/j.biortech.2014.02.102](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.102)

CHERNICHARO, C. A. L. *Reatores anaeróbios*. 2ª ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais, 2007. 380 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v. 5).

CHIRANJEEVI, P.; MOHAN, S. Venkata. Critical parametric influence on microalgae cultivation towards maximizing

biomass growth with simultaneous lipid productivity. *Renewable Energy*, v. 98, p. 64-71, 2016. [10.1016/j.renene.2016.03.063](https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.063)

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, v. 26, n. 3, p. 126-131, 2008. [10.1016/j.tibtech.2007.12.002](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.12.002)

FRANCO, A. L. C.; LÔBO, I. P.; CRUZ, R. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; NETO, J. A. D. A.; MENEZES, R. S. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. *Química Nova*, v. 36, n. 3, p. 437-448, 2013. [10.1590/S0100-40422013000300015](https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000300015)

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.

GUILLARD, R. R.; LORENZEN, C. J. Yellow-green algae with chlorophyllide C1, 2. *Journal of Phycology*, v. 8, n. 1, p. 10-14, 1972. [10.1111/j.1529-8817.1972.tb03995.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1972.tb03995.x)

KIRROLIA, A.; BISHNOI, N. R.; SINGH, R. Microalgae as a boon for sustainable energy production and its future research & development aspects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 20, p. 642-656, 2013. [10.1016/j.rser.2012.12.003](https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.12.003)

LEE, A. K.; LEWIS, D. M.; ASHMAN, P. J. Microbial flocculation, a potentially low-cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel. *Journal of Applied Phycology*, v. 21, n. 5, p. 559-567, 2009. [10.1007/s10811-008-9391-8](https://doi.org/10.1007/s10811-008-9391-8)

MENEZES, R. S.; LELES, M. I. G.; SOARES, A. T.; FRANCO, P. I. B.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; VIEIRA, A. A. H. Avaliação da potencialidade de microalgas dulcícolas como fonte de matéria-prima graxa para a produção de biodiesel. *Química Nova*, v. 36, n. 1, p. 10-15, 2013. [10.1590/S0100-40422013000100003](https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000100003)

MULBRY, W.; KONDRAD, S.; PIZARRO, C.; KEBEDE-WESTHEAD, E. 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, n. 17, p. 8137-8142, 2009. [10.1016/j.biortech.2008.03.073](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.073)

NOVOVESKÁ, L.; ZAPATA, A. K.; ZABOLOTNEY, J. B.; ATWOOD, M. C.; SUNDSTROM, E. R. Optimizing microalgae cultivation and wastewater treatment in large-scale offshore photobioreactors. *Algal research*, v. 18, p. 86-94, 2016. [10.1016/j.algal.2016.05.033](https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.05.033)

OLIVEIRA, A. C. *Produção de biomassa de microalgas Scenedesmus sp. em efluente de bovinocultura biodigerido*. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M. E.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae:

metabolism and potential products. Water Research, v. 45, n. 1, p. 11-36, 2011. [10.1016/j.watres.2010.08.037](https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.037)

REYNOLDS, C. S. Ecology of Phytoplankton. 1 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2006.

SAFI, C.; ZEBIB, B.; MERAH, O.; PONTALIER, P. Y.; VACAGARCIA, C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 35, p. 265-278, 2014. [10.1016/j.rser.2014.04.007](https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007)

SCHMIDELL, W.; LIMA, A. U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. Biotecnologia Industrial. 2 ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

STATSOFT. Statistica Version 7.0. StatSoft. Retrieved from. 2004.

TANG, D.; HAN, W.; LI, P.; MIAO, X.; ZHONG, J. CO<sub>2</sub> Biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chorella pyrenoidosa* in response to different CO<sub>2</sub> levels. Bioresource Technology, v. 102, n. 3, p. 3071-3076, 2011. [10.1016/j.biortech.2010.10.047](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.047)

TRIPATHI, R.; SINGH, J.; THAKUR, I. S. Characterization of microalga *Scenedesmus* sp. ISTGA1 for potential CO<sub>2</sub> sequestration and biodiesel production. Renewable Energy, v. 74, p. 774-781, 2015. [10.1016/j.renene.2014.09.005](https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.09.005)

VIEIRA, T. Q.; FERREIRA, W. B.; ARAÚJO, H. W. C.; CUNHA, T. H. C. S.; VIDAL, I. C. A.; MELO, D. J. N. Estudo da viabilidade do uso de resíduos líquidos no cultivo da microalga *Chlorella* sp. visando a produção de biocombustíveis. Revista Monografias Ambientais, v. 13, n. 4, p. 3477-3490, 2014. [10.5902/2236130813544](https://doi.org/10.5902/2236130813544)

XIN, L.; HONG-YING, H.; KE, G.; YING-XUE, S. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. Bioresource Technology, v. 101, n. 14, p. 5494-5500, 2010. [10.1016/j.biortech.2010.02.016](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.016)