

Portugal e o Mar

Biotecnologia Marinha - biocombustíveis, biorrefinarias e alimentos inovadores

João Varela¹, Sara Raposo², Hugo Pereira¹, Luísa Barreira¹

¹ *Centro de Ciências do Mar do Algarve e* ² *Centro de Investigação Marinha e Ambiental, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, Ed. 7, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro*

RESUMO

Apesar de fazer parte da estratégia de “*blue growth*” da União Europeia, a biotecnologia marinha ainda é uma atividade pouco explorada para desenvolver a economia local, nacional e transnacional ligada ao mar. No entanto, esta actividade de investigação tem a capacidade de gerar emprego altamente qualificado e com um potencial de inovação elevado. Através de uma colaboração entre dois grupos de investigação da Universidade do Algarve e companhias como a NECTON e SPAROS, estão-se a dar os primeiros passos para a implementação do conceito de biorrefinaria com vista ao aproveitamento integral e sustentável da biomassa de microalgas marinhas. Esse aproveitamento permitirá a produção de biocombustíveis na forma de biodiesel e bioetanol, a formulação de alimentos, rações e cosméticos inovadores e isolamento de compostos bioactivos com aplicação biomédica de alto valor acrescentado. Além disso, esforços de bioprospeção deram lugar ao isolamento de uma microalga susceptível de ser cultivada em efluentes de ETARs. O objectivo final será aliar a produção de biocombustíveis ao tratamento de águas, possibilitando assim uma fonte potencial de rendimento, que poderão aliviar os orçamentos municipais através de uma redução dos custos de operação.

ABSTRACT

Although part of the strategy of “*blue growth*” of the European Union, marine biotechnology is still a poorly explored activity to develop the local, national

and transnational sea-based economy. However, this research activity has the ability to generate highly skilled jobs and has a high innovation potential. Through a collaboration between two research groups at the University of Algarve and companies, such as NECTON and SPAROS, the first steps for the implementation of the biorefinery concept have been taken for the sustainable and full use of the biomass of marine microalgae. This achievement will allow the production of biofuels as biodiesel and bioethanol, the formulation of innovative food, feed and cosmetics as well as the isolation of bioactive compounds with biomedical applications with high-added value. Moreover, bioprospecting efforts have led to the isolation of microalgae likely to grow in effluents of waste water treatment plants. The ultimate goal will be to combine the production of biofuels with water treatment, thereby providing a potential income source that may alleviate municipal budgets by reducing operating costs.

INTRODUÇÃO

A estratégia de “crescimento azul” (ou *blue growth*) definida pela Comissão Europeia no que respeita à Europa e o Mar contempla várias áreas prioritárias, nomeadamente a “energia azul”, aquacultura, turismo, recursos minerais e a denominada “biotecnologia azul” ou biotecnologia marinha (European Commission, 2012). Neste momento, a biotecnologia marinha ainda é uma das vertentes do “crescimento azul” menos exploradas pelos países da União Europeia de modo a aproveitar os recursos marinhos e costeiros e desenvolver a economia europeia à escala transnacional, nacional e local. Por outro lado, o turismo costeiro, o transporte marítimo, as pescas e a produção de energia em instalações *offshore* dominam claramente a criação de emprego e produção de riqueza. No entanto, a biotecnologia marinha tem potencial para gerar emprego altamente qualificado e produzir não só conhecimento científico, mas também inovação na forma de empresas *startup* dedicadas a resolver problemas específicos e oferecer novos produtos.

BIOPROSPECÇÃO, BIOCOMBUSTÍVEIS e ALIMENTOS INOVADORES

Para concretizar o potencial da biotecnologia marinha, é necessário realizar uma bioprospecção de recursos marinhos com elevada potencialidade para gerar benefícios para a economia de uma forma sustentável, isto é, sem pôr em causa os ecossistemas de onde eles derivam. De modo a tornar esses rastreios os mais eficazes possíveis, é necessário utilizar estratégias que maximizem as possibilidades de sucesso. Uma dessas estratégias emprega métodos de rastreio de alto rendimento como a aplicação de técnicas de citometria de fluxo com separação de células ativada por fluorescência (FACS, *fluorescent activated cell sorting*) a organismos marinhos unicelulares fotossintéticos, frequentemente designados por “microalgas” (Fig. 1). Para tal, pode-se usar tanto o sinal dado pela autofluorescência de pigmentos fotossintéticos presentes no cloroplasto (Fig. 2A), como também através de sondas solvatocrómicas que fluorescem na presença na biomolécula de interesse. Um exemplo é o uso do fluorocromo BODIPY 505/515 para deteção e isolamento de novas estirpes de microalgas ricas em lípidos

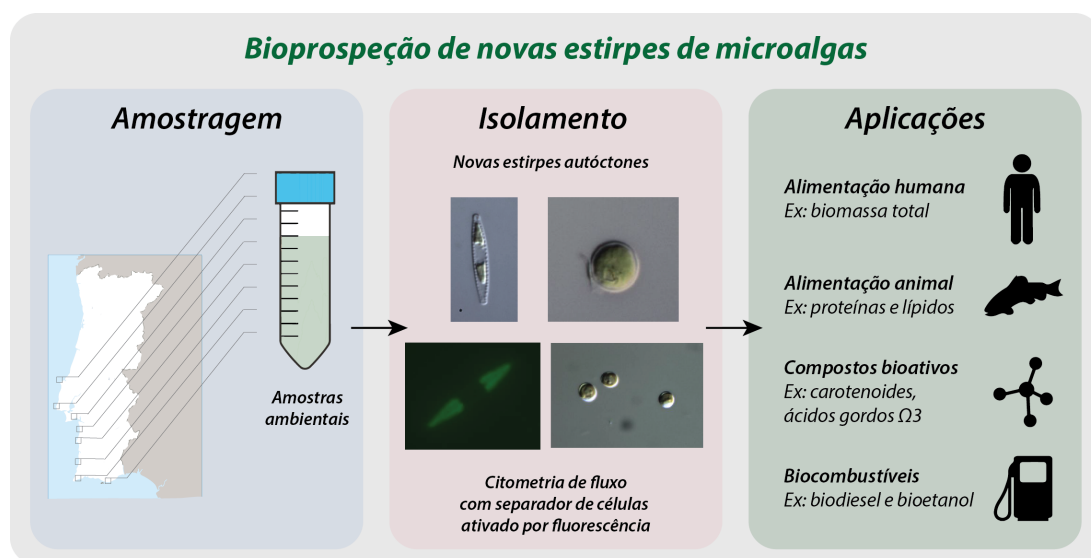


Fig. 1 - A bioprospecção de novas estirpes de microalgas permite o isolamento de novos recursos marinhos para diversas aplicações biotecnológicas, através da utilização de técnicas de alto rendimento, tal como a citometria de fluxo com separador de células ativado por fluorescência (fonte: MarBiotech, CCMAR, UAIG).

(óleos) que poderão ser convertidos em biodiesel (Pereira et al., 2011). Por sua vez, este biodiesel poderá ser utilizado como combustível nos atuais motores de combustão interna, havendo apenas a necessidade de uma pequena adaptação para usar este produto de origem renovável. Além disso, se a molécula de interesse (β -caroteno, por exemplo) for armazenada na célula em lípidos neutros, a seleção poderá ser feita sem a necessidade de recorrer a sondas, pois uma maior quantidade de óleos indica, em certas microalgas, a presença de maior quantidade deste pigmento (Mendoza *et al.*, 2008). Estas microalgas podem depois ser crescidas em microplacas para verificação do seu fenótipo hiperacumulador do pigmento (Fig. 2B). Esse pigmento pode ser usado para vários fins, desde tornar as gemas dos ovos mais laranjas, introduzindo essa microalga nas rações, até à utilização como suplemento nutracêutico na alimentação humana (Barreira et al., 2015).

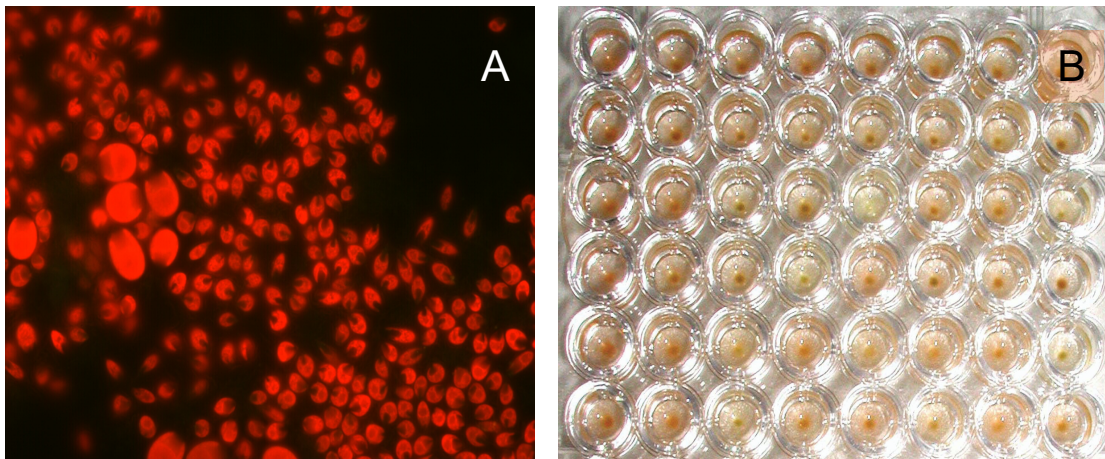


Fig. 2 - Bioprospecção de microalgas marinhas ricas em compostos de alto valor acrescentado. A) Autofluorescência de pigmentos fotossintéticos da microalga *Dunaliella salina*; podem-se observar várias células em que o cloroplasto único da microalga está corado de vermelho; os diferentes tamanhos das células estão relacionados com células de maturidade diferente — as células mais jovens tendem a ser pequenas, enquanto que as maduras tendem a ser de maior tamanho. B) Culturas de microalgas a crescer em microplacas de 96 poços para isolar algas hiperprodutoras do pigmento de interesse (β -caroteno) (fonte: MarBiotech, CCMAR, UAIG).

Porém, uma microalga própria para ser usada em rações ou na alimentação humana pode não ser a ideal para produção de biodiesel. Sabe-se atualmente que óleos ricos em ácidos gordos polinsaturados $\Omega 3$ são adequados à alimentação humana e à produção de rações. No entanto, este perfil bioquímico, em geral, torna o biodiesel produzido a partir daqueles óleos impróprio para a sua utilização como biocombustível, devido a problemas de estabilidade do produto final (Gangadhar et al., 2016). Assim, a bioprospecção de novas estirpes de microalgas é essencial para encontrar a microalga certa para o fim pretendido.

Para além dos ácidos gordos polinsaturados $\Omega 3$, as microalgas produzem ainda uma enorme variedade de outros compostos de valor acrescentado com aplicações na indústria farmacêutica, cosmética ou alimentar como nutracêuticos. Por exemplo, as microalgas *Botryococcus braunii* e *Nannochloropsis oculata*, respetivamente uma clorófita e uma heterokontófita, produzem compostos capazes de inibir a atividade da acetilcolinesterase, e proteger células de uma linha celular dopaminérgica humana contra o stress oxidativo o que lhes confere a possibilidade de aplicação como fármacos nas doenças de Alzheimer e de Parkinson (Custódio et al., 2015). Já extratos de *Isochrysis galbana*, uma haptófita, são capazes de reduzir seletivamente a viabilidade de células de um hepatocarcinoma humano (Custódio et al., 2014). Algo comum a todas estas espécies, e a outras microalgas como as clorófitas *Tetraselmis* sp., *Chlorella minutissima* (atualmente denominada mais corretamente por *Mychonastes homosphaera*) e *Scenedesmus* sp. e a criptófita *Rhodomonas salina*, é a sua composição em compostos com ação antioxidante o que lhes confere ainda a possibilidade de serem consideradas como alimentos funcionais ou como ingredientes em formulações cosméticas (Custódio et al., 2012, 2014).

BIORREFINARIAS

O conceito de biorrefinaria é uma questão proeminente da nossa sociedade que visa a exploração integrada de um dado recurso biológico. A necessidade do estabelecimento de biorrefinarias é tanto económica, como ambiental. O conceito de biorrefinaria pode ser aplicado ao caso em que a

biomassa algal é integralmente utilizada, com aproveitamento de todas as frações que a constituem, desde os lípidos, com exploração dos óleos, e glícidos para a produção de biocombustíveis (biodiesel, bioetanol, *biojetfuel* e biogás), proteínas para rações e vários outros compostos bioativos com aplicação biomédica, nutracêutica e/ou farmacêutica. Este sistema poderá ser economicamente sustentável, podendo contribuir para a diminuição do preço final dos biocombustíveis, já que as restantes utilizações permitirão custear a produção e processamento da biomassa, através da cogeração de eletricidade e venda de produtos de maior valor acrescentado como, por exemplo, carotenoides, vitaminas, e biomassa algal com elevado teor antioxidante para produtos cosméticos e alimentares (Varela et al., 2014). Atualmente, não existe nenhuma biorrefinaria em Portugal para produção de biocombustíveis, tanto de bioetanol como de biodiesel, que permita a sua incorporação em combustível aditivado. Caso Portugal queira cumprir as metas comunitárias a que se dispôs, continua dependente da importação dos biocombustíveis, representando um elevado peso na economia do país. Atualmente, a nível mundial e mesmo nacional, têm sido desenvolvidos esforços na procura de processos que tornem a produção destes biocombustíveis economicamente viáveis, passando por uma abordagem integradora do conceito de biorrefinaria. Assim, a sua produção terá que ser integrada no conceito de biorrefinaria em que, além da produção do biocombustível, se fará a produção de produtos de elevado valor acrescentado.

Para a concretização deste objectivo, dois grupos de investigação ligados ao Centro de Ciências do Mar (CCMAR) e ao Centro de Investigação Marinha Ambiental (CIMA) da Universidade do Algarve e dois parceiros empresariais (NECTON e SPAROS) têm unidos esforços para o aproveitamento de uma microalga isolada a partir de águas costeiras algarvias. Esta microalga (*Tetraselmis* sp. CTP4) demonstrou não só um perfil de óleos adequado para a produção de biodiesel, como também demonstrou a sua robustez para crescimento a altas temperaturas e em águas residuais de ETARs. Estudos ainda mais recentes revelaram que esta microalga poderá ser usada numa biorrefinaria onde várias frações da biomassa serão utilizadas para vários fins, após a extração dos óleos

necessários à síntese de biodiesel (H. Pereira, K. Gangadhar, P. Schulze, J. Varela e L. Barreira, manuscrito em preparação). Um dos fins da biomassa residual livre de óleos é a sua incorporação em rações para aquacultura (H. Pereira, M. Sardinha, L. Barreira, J. Dias, J. Varela, manuscrito em preparação) ou na produção de bioetanol (trabalho em curso).

De facto, a biorrefinaria para produção de etanol de 2ª geração, utilizando resíduos agroindustriais, provenientes da indústria local e regional, já mostrou que os processos podem ser sustentáveis (Lima-Costa *et al.*, 2016). Neste contexto, tendo por base a produção de biocombustível, consideraram-se também subprodutos, resultantes do processo, além da valorização de resíduos altamente poluentes, com elevada carga orgânica, sendo esta significativamente reduzida. A investigação atual da Universidade do Algarve, na área da biotecnologia e energia azul, pretende fazer uso integrador de biorrecursos marinhos com o tratamento de efluentes sejam eles domésticos ou agroindustriais. Estes últimos são fontes ricas em matéria orgânica e nutrientes que poderão ser usadas no crescimento de microalgas, cuja biomassa poderá ser usada como fonte de óleos para a síntese de biocombustíveis. Esta possibilidade transformaria o tratamento de águas num processo potencialmente autossustentável, gerando receitas adicionais que poderiam baixar os custos de operação.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Uma das conclusões que se pode tirar desde já é a necessidade urgente que Portugal e a Europa têm de apoiar esforços relacionados com a biotecnologia marinha. Portugal possui uma das maiores zonas económicas exclusivas, mas até agora o seu impacto na economia tem-se restringido a atividades económicas tradicionais, como o turismo e a pesca. No entanto, o desenvolvimento de Portugal tem de forçosamente passar também pela criação de emprego altamente qualificado. Assim, a biotecnologia marinha posiciona-se claramente como uma alavanca fundamental na estratégia de desenvolvimento de Portugal, tanto a nível dos seus recursos humanos, como a nível da utilização sustentável dos seus recursos marinhos para a criação de emprego, através do conhecimento e inovação. A Universidade do

Algarve, através da cooperação de dois grupos de investigação e dois parceiros empresariais tem dado importantes passos nessa direção, através de atividades de bioprospeção e de investigação com vista ao aproveitamento biotecnológico dos recursos marinhos locais. Tais esforços já levaram ao isolamento de uma nova estirpe de microalga que poderá ter um forte impacto na estratégia de “energia azul” da União Europeia, que poderá ser também aproveitada para a formulação de rações para a aquacultura. Além disso, a descoberta de extractos e compostos com forte potencial biomédico, a partir de outros recursos marinhos produzidos no Algarve, permite encarar o futuro com confiança — isto é, que a biotecnologia marinha concretize a sua promessa a curto / médio prazo.

REFERÊNCIAS

- Barreira, L., Pereira, H., Gangadhar, K.N., Custódio, L., Varela, J. (2015) Medicinal effects of microalgae-derived fatty acids. In: *Handbook of Marine Microalgae*, S. Kim (Ed.), Academic Press, 604pp. doi: 10.1016/B978-0-12-800776-1.00013-3.
- Custódio, L., Justo, T., Silvestre, L., Barradas, A., Duarte, C.V., Pereira, H., Barreira, L., Rauter, A.P., Albericio, F., Varela, J. (2012) Microalgae of different phyla display antioxidant, metal chelating and acetylcholinesterase inhibitory activities. *Food Chemistry*, **131**, 134–140.
- Custódio, L., Soares, F., Pereira, H., Barreira, L., Duarte, C.V., Rodrigues, M.J., Rauter, A.P., Albericio, F., Varela, J. (2014) Fatty acid composition and biological activities of *Isochrysis galbana* T-ISO, *Tetraselmis* sp. and *Scenedesmus* sp.: possible application in the pharmaceutical and functional food industries. *J Appl Phycol*, **26**, 151–161.
- Custódio, L., Soares, F., Pereira, H., Rodrigues, M.J., Barreira, L., Rauter, A.P., Albericio, F., Varela, J. (2015) *Botryococcus braunii* and *Nannochloropsis oculata* extracts inhibit cholinesterases and protect human

dopaminergic SH-SY5Y cells from H₂O₂-induced cytotoxicity. *J Appl Phycol*, **27**, 839–848.

European Commission (2012) *Blue Growth opportunities for marine and maritime sustainable growth*. European Commission, COM(2012), Brussels.

Gangadhar, K.N., Pereira, H., Diogo, H.P., Borges dos Santos, R.M., Devi, B.L.A.P., Prasad, R.B.N., Custódio, L., Malcata, F.X., Varela, J., Barreira, L. (2016) Assessment and comparison of the properties of biodiesel synthesized from three different types of wet microalgal biomass. *J Appl Phycol*, doi:10.1007/s10811-015-0683-5.

Lima-Costa, ME, Raposo, S, Rodrigues, B, Constantino, A. (2016) Growth kinetics and physiological behavior of co-cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces lactis*, fermenting carob sugars extracted with whey. Patente: 109076 de 07/01/2016

Mendoza, H., Freijanes, K., Carmona, L., Ramos, A., Duarte, V., Varela J. & de la Jara, A. (2008). Characterization of *Dunaliella salina* strains by flow cytometry: a new technique to select β -carotene hyperproducing strains. *Electronic J Biotechnol*, **11**, doi:10.2225/vol11-issue4-fulltext-2.

Pereira, H., Barreira, L, Mozes, A., Florindo, C., Polo, C., Duarte, C.V., Custódio, L. and Varela, J. (2011). Microplate-based high throughput screening procedure for the isolation of lipid-rich marine microalgae. *Biotechnol. Biofuels* **4**, 61.