



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**



**AVALIAÇÃO DO USO DE BIOMASSA DE MICROALGA COMO SUBSTRATO
PARA LEVEDURAS NA SÍNTESE DE ETANOL**

Amanda Oliveira Rodrigues

**UBERLÂNDIA - MG
2020**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**Avaliação do uso de biomassa de microalga como substrato para
leveduras na síntese de etanol**

Amanda Oliveira Rodrigues

**Monografia de graduação apresentada à
Universidade Federal de Uberlândia
como parte dos requisitos necessários
para a aprovação na disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso do
curso de Engenharia Química.**

**UBERLÂNDIA - MG
2020**

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA MONOGRAFIA DA DISCIPLINA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE AMANDA OLIVEIRA RODRIGUES
APRESENTADA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA NO DIA 25 DE
SETEMBRO DE 2020.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dra. Fabiana Regina Xavier Batista
Orientadora – FEQUI/UFU

Profa. Dra Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros
FEQUI/UFU

Ms. Igor Geraldo Fiuza Costa
Doutorando/FEQUI/UFU

RESUMO

Nos dias atuais, tem-se procurado cada vez mais uma mudança em direção à utilização de fontes renováveis para geração de energia em detrimento do uso de combustíveis fósseis. Tal mudança é indispensável em um cenário de economia mundial baseada no conceito de desenvolvimento sustentável. A variabilidade de matérias-primas existentes para produção do etanol propicia vantagens para a produção de energia. Contudo, deve-se optar por aquelas que apresentem características plausíveis. Nesse contexto, observa-se que microalgas apresentam características adequadas para produção de combustíveis, dependendo do tipo de tratamento a que são submetidas, da espécie que está sendo analisada, bem como da composição bioquímica da biomassa. Portanto, considerando a constante busca por métodos mais viáveis de pré-tratamento da biomassa, hidrólise e fermentação, o presente trabalho busca abordar metodologias eficazes no âmbito de qualidade e rendimento do bioetanol, reforçando assim, o interesse no desenvolvimento de biocombustíveis feitos a partir da biomassa de microalgas.

Palavras-chave: Etanol; Microalgas; Pré- tratamento; Biomassa.

ABSTRACT

Currently, a change is being sought in the use of renewable sources for energy generation, to the detriment of the use of fossil fuels. This change is indispensable in a world economy scenario based on the concept of sustainable development. The existing variability of so many materials for the production of ethanol offers advantages for the production of energy, however, must choose those that have plausible characteristics. In this context, it is observed that microalgae have adequate characteristics for the production of fuel, depending on the type of treatment they are subjected to, the species under analysis and the biochemical composition of the biomass. Therefore, considering this constant search for more viable methods of pre-treatment of biomass, hydrolysis and fermentation, the present work seeks to address effective methodologies in the area of quality and yield of bioethanol, reinforcing the interest in the development of biofuels made from microalgae biomass.

Keywords: Ethanol; Microalgae; Pre-treatment; Biomass.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha família, pelo suporte dado ao longo da graduação, sem o carinho de vocês eu nada seria.

Sinceros agradecimentos à Faculdade de Engenharia Química por proporcionar recursos para elaboração deste trabalho e à Professora. Dra. Fabiana Regina Xavier Batista pelo suporte dado em todo processo de construção da monografia.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO GERAL	2
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	2
3.1 COMBUSTÍVEIS FOSSEIS E A DEGRADAÇÃO DO MEIO AMBIENTE.....	3
3.2 FONTES ALTERNATIVAS DE ENERGIA.....	4
3.3 BIOMASSA NA PRODUÇÃO DE COMBUSTÍVEIS RENOVÁVEIS.....	7
3.4 MICROALGA.....	9
3.4.1 Fotobiorreatores	11
3.5 ETANOL.....	14
3.5.1. Primeira Geração	15
3.5.2. Segunda Geração	16
3.5.3. Terceira Geração	16
3.5.4.Etapas da Utilização de Biomassa de Microalga na Produção de Etanol .	16
3.5.5.Uso da hidrólise na produção de etanol de terceira geração	17
4. DISCUSSÃO	18
4.1 Avaliação das condições de cultivo na produção de biomassa de microalga.	18
4.2 Influência do tipo de biorreator no cultivo de microalgas visando a síntese de etanol.....	22
4.3 Análise da hidrólise ácida e da hidrólise enzimática de biomassa de microalga empregada como substrato para leveduras na síntese de etanol.	23
5. CONCLUSÃO	26
6. AGRADECIMENTOS	iii
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

1. INTRODUÇÃO

Com o aumento da modernização dos meios de transporte pelo mundo, surgiram várias opções energéticas e tecnológicas para a obtenção de combustíveis. Os combustíveis fósseis foram responsáveis por impulsionar a economia por diversos anos, mas também, trouxeram consigo inúmeros agravantes à saúde humana e ao meio ambiente (BRAGION et al., 2012).

As pressões atuais exercidas sobre o meio ambiente pelo uso de combustíveis fósseis não renováveis nos levam a um debate contínuo entre aqueles que lutam para proteger o capital natural e aqueles que pretendem minimizar os efeitos. Tais efeitos e o amplo alcance das mudanças climáticas são visíveis e faz-se necessária a implantação de fontes alternativas de energia limpa (PECHENE, 2018).

Conforme Demirbas (2010), os biocombustíveis são uma fonte de energia renovável produzida a partir da biomassa, os quais podem ser substituintes dos combustíveis derivados do petróleo. Os benefícios dos biocombustíveis em relação aos combustíveis convencionais já existentes incluem uma segurança tecnológica energética, redução de impactos ambientais, reaproveitamento de resíduos e beneficiamento no setor socioeconômico. Tendo em vista a necessidade de obtenção de fontes de energia alternativa, faz-se necessário, cada vez mais, o estudo e análise da produção de combustíveis considerados “limpos”.

Dentre as fontes de energia alternativa se destaca a biomassa, da qual são produzidos combustíveis como o etanol, capaz de substituir derivados de petróleo como a gasolina (RAMOS, 2018). A biomassa é uma fonte de energia alternativa que está sendo discutida de forma explícita desde os anos 90, devido aos impactos causados pelos combustíveis fósseis ao meio ambiente pela emissão de CO₂, e principalmente, devido a seus benefícios como matéria-prima na elaboração do etanol (MCKENDRY, 2012).

No Brasil, a produção do etanol ocorre a partir da matéria-prima vegetal orgânica rica em açúcares, por via fermentativa. Como matérias-primas para elaboração de etanol são utilizadas culturas agrícolas, resíduos florestais e algas, caracterizados por serem matérias-primas ricas em glicose. Já a produção de etanol a partir da biomassa de microalgas tem ganhado bastante visibilidade em relação a outros tipos de matérias primas para produção de combustíveis limpos (MIRANDA,2010).

As algas fazem parte de um grande grupo de organismos fotossintéticos, e podem ser classificadas como unicelulares e multicelulares. As designadas como microalgas (unicelulares) são aquelas que flutuam na superfície do mar devido ao seu conteúdo lipídico. As chamadas macroalgas (multicelulares) são simplesmente encontradas em rochas ou outras estruturas. Em relação à produção de etanol, as microalgas chamam a atenção de pesquisadores e geram estudos e publicações científicas (MY. 2012).

As microalgas são organismos de rápido crescimento e composição química diversificada. A biomassa de microalgas tem sido utilizada por pesquisadores para obtenção de diferentes tipos de biocombustíveis (biodiesel, etanol, metano, hidrogênio e bio-óleo) devido à alta concentração e produtividade de bioprodutos (lipídios, carboidratos, proteínas e outros), armazenados em suas células, quando comparados à biomassa tradicionalmente utilizada (CARDOSO et al., 2011).

A biomassa de microalgas pode ser obtida por meio de cultivo autotrófico e / ou heterotrófico, usando lagoas ou sistemas fechados de fotobiorreatores, sem a necessidade de uso de terras agrícolas. Após o cultivo, a biomassa é separada do meio de cultura por processos físicos e químicos e seca utilizando diferentes tecnologias para preservá-la e auxiliar na próxima etapa, a extração de componentes celulares (MIRANDA,2010)

2. OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo avaliar a relevância do uso de biomassa de microalga como substrato para leveduras na síntese de etanol.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as condições de cultivo e de produção de biomassa de microalga;
- Analisar a influência da escolha de fotobiorreatores para produção de etanol;
- Analisar o uso da hidrólise ácida e da hidrólise enzimática de biomassa de microalga empregada como substrato para leveduras na síntese de etanol.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 COMBUSTÍVEIS FOSSEIS E A DEGRADAÇÃO DO MEIO AMBIENTE

Ainda que hajam progressos marginais em fontes de energias alternativas, a economia energética do mundo industrial é tão profundamente dependente dos combustíveis fósseis que mesmo o mais célere crescimento das indústrias de energia eólica, solar e outras energias renováveis não poderia substituir substancialmente o petróleo, o carvão e o gás natural durante décadas (AYRES e AYRES, 2012).

O petróleo, atualmente, constitui a principal fonte de energia mundial representando uma considerável porcentagem dos combustíveis disponíveis no mundo. O principal motivo do seu crescimento reside na aparição de novas economias emergentes. Devido à crescente demanda deste recurso se prevê que nos próximos anos não haverá quantidade suficiente de petróleo para suprir as necessidades energéticas mundiais (TEIXEIRA, 2008).

O carvão mineral é outro recurso utilizado para produção de energia. É uma das formas de geração energética que mais agride a natureza. O processo de produção, extração e combustão causam enormes impactos ao meio ambiente. A exploração do solo exige intervenções que prejudicam as populações locais, os recursos hídricos, a fauna e a flora, pois, provocam barulho, poeira e erosão. O maior impacto ocorre na liberação de gases tóxicos como o nitrogênio e o dióxido de carbono, que ocorre devido a combustão (BUENO 2010).

Devido aos choques do petróleo, o gás natural, foi o combustível fóssil que mais registrou crescimento de produção. Em 2009, ocupou a terceira posição com 20,9% em relação à oferta de energia primária mundial, ficando atrás apenas do petróleo e o carvão, ambos combustíveis fósseis (IEA 2009).

Fora o grande problema de esgotamento dos recursos naturais e dos inúmeros derramamentos de águas residuais nos oceanos provenientes da extração do petróleo, os combustíveis fósseis também trazem consigo uma imensa contaminação do ar atmosférico. De acordo com Guarieiro, Vasconcellos e Solci (2011), cerca de 3000 diferentes compostos provenientes da ação humana já foram identificados na atmosfera, sendo a maior parte deles orgânicos. Essa mistura complexa de poluentes causa preocupação devido ao impacto que pode causar à saúde e ao ambiente.

Segundo Azuaga (2000) a poluição atmosférica pode ser definida como a presença de substâncias nocivas, na atmosfera, em quantidade suficiente para afetar sua composição ou equilíbrio, prejudicando o meio ambiente e as mais variadas formas de vida. Este tipo de poluição causa sérios impactos não só na vida humana, como também na vida animal e vegetal, além da deterioração de bens culturais de lazer e da inutilização ou depreciação dos recursos naturais.

As fontes veiculares têm tido uma participação acentuada na degradação da qualidade do ar atmosférico, especialmente nos grandes centros urbanos. Dentre as questões habituais da realidade destes grandes centros estão os congestionamentos de grandes extensões em horários de pico, a redução da velocidade média do trânsito nos corredores de tráfego e o maior gasto de combustível (TEIXEIRA et al., 2008).

A poluição do ar é um problema que assola não só os países industrializados, mas também aqueles em desenvolvimento. O Brasil está entre os países que sofreu um notável aumento na motorização individual, fato que implica na intensificação do tráfego de veículos nos grandes centros urbanos e nos congestionamentos cada vez mais frequentes. Além disso, o crescimento do número de veículos causa impactos negativos no meio ambiente, devido à poluição sonora e do ar (FILIZOLA, 2004).

Teixeira et al. (2008) afirma que as emissões causadas por veículos automotores carregam uma grande variedade de substâncias tóxicas, as quais quando em contato com o sistema respiratório, podem ter os mais diversos efeitos negativos sobre a saúde. Essas emissões, devido ao processo de combustão e queima incompleta do combustível, são compostas de gases como: óxidos de carbono (CO e CO₂), óxidos de nitrogênio (NO_x), hidrocarbonetos (HC), dentre os quais estão alguns considerados cancerígenos, óxidos de enxofre (SO_x), partículas inaláveis, entre outras substâncias.

3.2 FONTES ALTERNATIVAS DE ENERGIA

Estrategicamente, em um nível global, a eficiência energética não se traduz somente pelo combate ao desperdício e no desenvolvimento e aplicação de tecnologias adequadas, mas, também, pela manutenção do meio ambiente diante

das agressões sofridas no passado e que aumentam a cada instante pelas pressões dos modelos econômicos.

Diante da forma insustentável de apropriação e utilização de recursos, materiais e energéticos não renováveis, e levando em conta o crescimento da população mundial, surge-se a preocupação com a manutenção da estabilidade do setor energético.

O mundo moderno precisa de energia para a dinâmica evolutiva da sociedade. Esse entendimento nos leva a uma avaliação da matriz energética mundial, que é principalmente baseada em energia fóssil, não renovável, vinda de derivados de petróleo, gás natural, carvão, xisto, turfa, e remete às atenções mundiais para a oportunidade de outras fontes de energia renováveis, como a hidráulica, eólica e de biomassa (DURÃES et al., 2013).

Os olhos do mundo estão voltados para o setor de energia. Mais que oportunidades, que aparecem cada vez que uma crise se anuncia, buscam-se alternativas para uma era de escassez e mudanças climáticas. Países de todo o mundo procuram alternativas para uma era de escassez e mudanças climáticas. O investimento em eficiência energética tem aumentado e tem se mostrado evidente que a matriz energética mundial se encontra em pleno processo de mudança (BUENO 2010).

A contribuição de alguns tipos de alternativas energéticas somente seria viável em função das peculiaridades geográficas do país em questão, como: energia hidroelétrica, energia geotérmica, energia solar e etc. Assim, regiões com baixa propensão a ventos não poderiam utilizar a energia eólica como componente importante em sua matriz energética. Da mesma forma que os países nórdicos apresentariam restrições para se utilizar energia solar em virtude de seu foto-período curto, principalmente no inverno (IEA 2009).

As energias renováveis são provenientes de ciclos naturais de conversão da radiação solar, fonte primária de quase toda energia disponível na Terra e, por isso, são praticamente inesgotáveis. Tais tipos de energia não alteram o balanço térmico do planeta e se configuram como um conjunto de fontes de energia que podem ser chamadas de não-convencionais, ou seja, aquelas não baseadas nos combustíveis fósseis e grandes hidroelétricas. Atualmente, tem-se procurado mais apropriadamente usar as denominações Energias Renováveis e Novas Energias, para delimitar o conceito naquelas com ciclos de renovação natural, que, em última

análise, se originam da energia solar como fonte primária. Incluindo-se nesta categoria a energia eólica, de biomassa e a solar, estas são formas de energia que se regeneram de uma forma cíclica em uma escala de tempo reduzida (PACHECO, 2006).

A radiação solar pode ser utilizada diretamente como fonte de energia térmica, para aquecimento de fluidos e ambientes e para geração de potência mecânica ou elétrica. Pode ainda ser convertida diretamente em energia elétrica, por meio de efeitos sobre determinados materiais, entre os quais se destacam o termoelétrico e o fotovoltaico. Quase todas as fontes de energia como já foi mencionado—hidráulica, biomassa, eólica, combustíveis fósseis e energia dos oceanos – são formas indiretas de energia solar (PACHECO, 2006).

A energia hídrica deriva do aproveitamento da água para produção de eletricidade e em se tratando de energia com características renováveis, decorre da instalação de pequenas centrais hidroelétricas (PCHs) as chamadas mini-hídricas, que atualmente estão sendo mais utilizadas devido ao fato de causarem menor impacto ambiental e de serem mais facilmente introduzidas em infra-estruturas urbanas já existentes (ENERGIA, 2006).

A energia eólica tem-se firmado como uma grande alternativa na composição da matriz energética de diversos países. Aqui no Brasil, essa fonte de energia tem se mostrado uma excelente solução na busca de formas alternativas de geração de energia para a região Nordeste. É uma abundante fonte de energia renovável, limpa e disponível em todos os lugares. Atualmente, a indústria de turbinas eólicas vem acumulando crescimentos anuais acima de 30% e movimentando cerca de dois bilhões de dólares em vendas por ano (PANORAMA, 2007).

O uso da biomassa para produção de energia possibilita maior equilíbrio ecológico e estabilidade do ciclo do carbono. As principais alternativas de processamento da biomassa são através da incineração, método destrutivo, compostagem e biodigestores. A última alternativa se constitui em estruturas mais complexas e mais intensivas em mão-de-obra e gerenciamento. A utilização da biomassa como combustível pode ser feita na sua forma bruta ou através de seus derivados (BUENO, 2010).

3.3 BIOMASSA NA PRODUÇÃO DE COMBUSTÍVEIS RENOVÁVEIS

A palavra biomassa, em sua essência, significa “massa viva” ou “matéria viva”. Sua produção se inicia na base da cadeia trófica através da atividade fotossintetizante das plantas. A biomassa pode ser obtida de qualquer tipo de resíduos de madeira de dimensões diversas, produtos e resíduos agrícolas, resíduos florestais dentre outros (GOLDEMBERG, 2009).

Inúmeros tipos de biomassa podem ser identificados como fontes alternativas para a produção de energias limpas. Essas biomassas podem ser derivadas de bio-resíduos, como por exemplo, sobras de alimentos, resíduos municipais e agrícolas; podem também ser provenientes de culturas energéticas comestíveis e não comestíveis; de plantas aquáticas consideradas fontes de bio-óleo, entre outros (SINGH et al., 2010).

A conversão da biomassa em biocombustíveis pode ser classificada como sendo termoquímica e bioquímica. O primeiro processo é caracterizado como pirólise, liquefação, gaseificação e hidrogenação. A pirólise e a liquefação produzem bio-óleo como produto principal, a gaseificação gera gases de síntese, enquanto que a hidrogenação auxilia na otimização das propriedades dos biocombustíveis, bem como da matéria-prima. Já os processos bioquímicos contam com a transesterificação e fermentação, os quais produzem, como produtos principais, biodiesel e bioetanol, respectivamente (SUALI et al., 2012).

A energia resultante depende da matéria utilizada para sua obtenção assim como a tecnologia de transformação empregada. Quando em substituição aos combustíveis fósseis, a biomassa representa uma alternativa interessante para reduzir a poluição localizada e global. Contudo, é importante salientar que empreendimentos que realizam o processamento da biomassa para geração de energia, se não forem implantados e conduzidos segundo criterioso controle ambiental, podem gerar grande impacto ambiental, eliminando completamente os benefícios ambientais de sua existência. Em relação a outros tipos de energias renováveis, a biomassa se destaca pelo alto potencial energético e pelas facilidades de armazenamento, conversão e transporte (GOLDEMBERG 2009).

A *Figura 1* mostra as possíveis rotas de transformação de bioenergia a partir de diferentes tipos de biomassa.

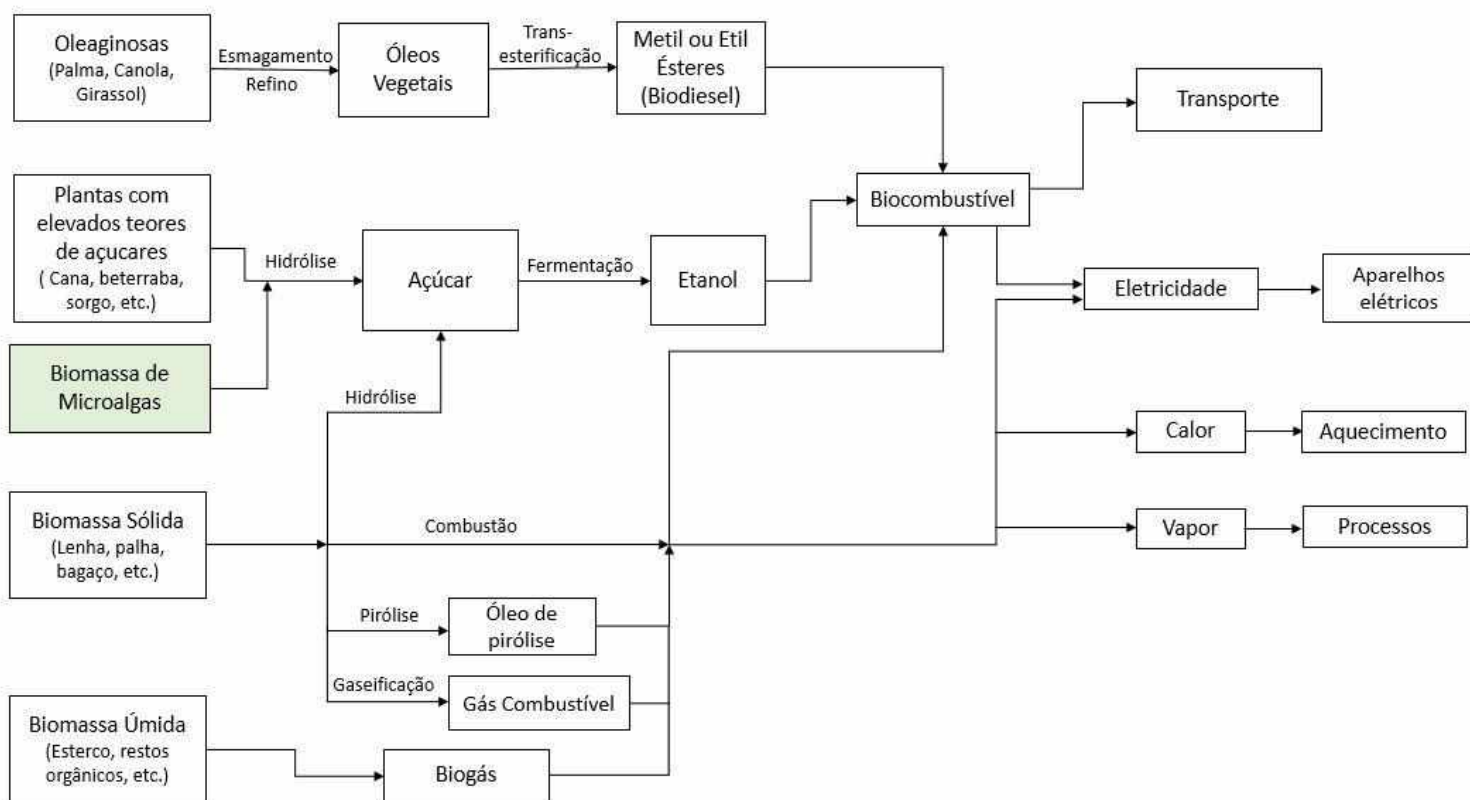


Figura 1: Rota de processamento da biomassa para geração de energia.

Fonte: Miranda (2010)-adaptado.

Atualmente, a biomassa vem sendo cada vez mais utilizada em sistemas de cogeração e no suprimento de eletricidade para demandas isoladas da rede elétrica. Neste processo, há a produção simultânea de uma forma de energia em outras formas de energia úteis utilizando a biomassa ou outro combustível convencional. Este mecanismo tem sido utilizado com sucesso pela indústria sucroalcooleira que se utiliza do bagaço da cana para a cogeração de energia (BEN, 2010).

De acordo com BEN (2010), a geração de eletricidade a partir de biomassa (sólida, líquida e gaseificada), no Brasil é extremamente viável devido à vasta superfície do território nacional, quase toda localizada em regiões tropicais e chuvosas, que oferece excelentes condições para a produção e o uso energético da biomassa em larga escala.

Seja esgoto, estrume, serragem ou restos vegetais, nenhuma outra fonte de energia renovável tem sua matéria prima no lixo e é tão efetiva e flexível como a

biomassa. Dela se pode obter tanto combustível quanto calor e eletricidade. Ao contrário do petróleo e do gás natural, a biomassa reduz a emissão de gases de efeito estufa (SEIFFERT, 2009).

Portanto, o progresso no desenvolvimento de alternativas para a energia de biomassa, além de aliviar a pressão em recursos finitos de combustíveis fósseis, pode reduzir os custos de mitigação de emissões de carbono. O etanol de cana-de-açúcar, por exemplo, tem um balanço energético positivo de oito para um, e um custo aproximadamente nulo de mitigação de carbono. Como uma tecnologia que evita emissões de gases de efeito-estufa, o etanol poderia, em breve, alcançar custos negativos conforme se torna mais barato do que a gasolina – mesmo sem subsídios governamentais – em alguns mercados (GOLDEMBERG 2009). Assim, a otimização de bioprocessos para a obtenção de etanol se mostra necessária e o uso de microalgas associado à leveduras em fermentações pode proporcionar incrementos interessantes na síntese deste biocombustível.

3.4 MICROALGA

As microalgas são organismos autotróficos que se desenvolvem a partir do processo de fotossíntese, assim como plantas terrestres. Esses microrganismos apresentam requisitos simples para seu desenvolvimento (luz, açúcares, CO₂, N, P, K), podem crescer em diversos habitats e em temperaturas extremas com diversas variações no pH, produzem lipídios e carboidratos em grande quantidade em um curto prazo de tempo (BRENNAN et al., 2009).

O cultivo de microalgas é essencial para a obtenção de substâncias como os ácidos graxos, carboidratos, proteínas e pigmentos, como por exemplo, a clorofila. No momento em que ocorre a variação da composição e concentração dessas substâncias, obtêm-se diferentes propriedades, as quais são influenciadas pela natureza desses microrganismos, pelas condições e estado fisiológico da cultura (DÍAS-PALMA et al., 2012).

A estrutura unicelular das microalgas permite que elas possam converter energia solar em energia química facilmente. Porém, para se alcançar uma eficácia para a produção de energia renovável, deve-se levar em consideração a exploração de técnicas, assim como, procedimentos e processos de produção em grandes quantidades (SUALI et al., 2012).

Se comparadas com outros tipos de culturas, as microalgas necessitam de técnicas mais específicas para o seu cultivo, extração e conversão para que apresentem viabilidade no processo de produção. Concomitantemente, os custos de purificação do produto final, bem como dos processos de preparo antecedentes, são altos se comparados com outros meios de cultura (SUALI et al., 2012).

Segundo Demirbas (2010), as microalgas podem apresentar desvantagens, todavia, as quantidades de vantagens observadas demonstram a adequação desses microrganismos no setor energético. Dentre as principais vantagens de se utilizar microalgas como matéria-prima, resalta-se: a elevada taxa de crescimento, que auxilia e satisfaz a alta demanda de biocombustíveis sem desperdiçar recursos alimentícios; o bom desenvolvimento que apresentam na presença de CO₂, permitindo, assim, uma grande eficiência na mitigação do mesmo; o cultivo de microalgas necessita de menos água se comparado às culturas terrestres; auxiliam na redução da emissão de gases causadores do efeito estufa.

As microalgas possuem a capacidade de converter seu material de estoque em açúcares fermentáveis. A inexistência ou quase ausência de lignina na composição destas espécies faz com que o processo de hidrólise seja mais simples.

A adição de ferro (III) a culturas de microalgas permite também aumentar o teor em açúcares em microalgas oceânicas devido ao aumento da eficiência da fotossíntese. Porém, esta acumulação depende da quantidade luz incidente e é consequência de um efeito sinérgico entre a suplementação e a iluminação da cultura (OIJEN *et al.*, 2005).

A intensidade de luz disponibilizada para as microalgas é um dos principais parâmetros que afetam o sucesso ou fracasso de culturas das microalgas. Com o aumento da intensidade de luz, aumenta a fotossíntese até que um ponto é alcançado onde a taxa máxima de crescimento é atingida (ponto de saturação) (LEE 2010). O aumento da intensidade da luz para além deste ponto não aumenta a taxa de crescimento e pode levar à foto-oxidação, danificando os receptores de luz diminuindo a velocidade de fotossíntese e produtividade (fotoinibição) (SINGH et al., 2010).

3.4.1 Fotobiorreatores

A produção de microalgas em sistemas fechados permite ultrapassar as maiores dificuldades do cultivo em sistemas abertos, reduzindo os riscos de contaminação por outros microrganismos, aumentando a eficiência na utilização de luz, e permitindo o controlo das condições da cultura, com maior produtividade de biomassa (BOROWITZKA, 1999; BRENNAN, OWENDE e RENEW. 2009).

Ao contrário dos sistemas abertos, os fotobiorreatores fechados têm como principal desvantagem um elevado custo de construção e operação. Existem vários tipos de fotobiorreatores, sendo que os mais comuns são os em Coluna, Flatplate e os Tubulares.

A *figura 2* ilustra os três tipos de fotobiorreatores mais comuns utilizados para cultivo de microalgas.

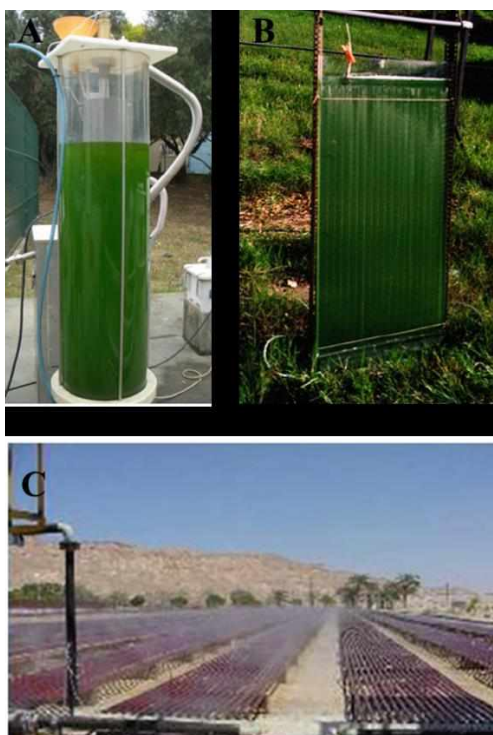


Figura 2: Exemplo de diferentes tipos de fotobiorreatores: em coluna (A), flat plate (B) e tubulares (C). Fonte: Miranda (2010)

Nos fotobiorreatores em coluna, o arejamento e mistura da coluna são realizados pela injeção de ar. Devido ao formato cilíndrico do reator, apenas metade da sua superfície é iluminada. Embora as produtividades sejam elevadas, a possibilidade de *scale up* para instalações industriais é limitada devido à altura do reator e ao percurso óptico da cultura (GRIMA *et al.*, 1999).

Sistemas *flat-plate* consistem em paralelepípedos de vidro, plástico ou outro material que permita a passagem da radiação solar, em que o ar é injetado pela base, fornecendo o dióxido de carbono necessário ao crescimento da biomassa e criando turbulência para que todas as células tenham acesso à radiação solar. A alta turbulência, a reduzida acumulação de oxigênio na cultura, o reduzido gasto de energia auxiliar e a fácil remoção de algas sedimentadas, permitem não só produtividades elevadas de biomassa como também são muito atrativos do ponto de vista industrial. O aproveitamento da radiação incidente pode ainda ser maximizado pela orientação dos reatores em função da deslocação do Sol (HARUN *et al.*, 2010; CHENG-WU *et al.*, 2001).

Os fotobiorreatores tubulares são normalmente de vidro ou plástico e surgem num conjunto de tubos transparentes com diâmetro inferior a 0,1 m. Estes tubos não podem ser de grande diâmetro uma vez que é necessária luz para que o processo de fotossíntese ocorra. Porém, este tipo de sistema está sujeito à acumulação de concentrações elevadas de oxigênio, ao sobreaquecimento da cultura e à formação de gradientes de pH (CHISTI, 2007; GRIMA *et al.*, 1999) e por isso, acoplado aos tubos, encontra-se habitualmente um de gaseificador, que tem como propósito a remoção do ar. A estrutura tubular aumenta a área iluminada repercutindo-se em produtividades elevadas.

Embora os fotobiorreatores fechados permitam produzir maiores quantidades de biomassa, a quantidade de energia que requerem para agitação e difusão do dióxido de carbono torna-os pouco inviável para a produção de microalgas para biocombustíveis, usando-se essencialmente para a produção de compostos de elevado valor agregado.

A *Tabela 1* apresenta a comparação dos fotobiorreatores do tipo coluna, flatplate e tubular:

Tabela 1: Principais tipos de fotobiorreatores e suas vantagens e desvantagens (Fonte: SEVILLA, 2014)

	Coluna	Flatplate	Tubular
Vantagens	<p>São de fácil construção</p> <p>Sua forma cilíndrica ajuda na distribuição da luz</p> <p>Possui corrente de aeração (bolhas) que proporciona a mistura do sistema</p>	<p>São de fácil construção</p> <p>O caminho óptico pode ser tão fino quanto se queira.</p> <p>Podem ser construídos inclinados e é possível orientá-los para o sol, de forma a maximizar a captação de luz e consequentemente a produtividade.</p>	<p>São os mais sofisticados e especializados</p> <p>Possuem alta razão de superfície exposta por volume.</p> <p>Alto controle dos parâmetros de processo.</p> <p>A estrutura tubular aumenta a área iluminada o que gera produtividades elevadas</p>
Desvantagens	<p>É difícil construí-los com um <u>grande volume</u>, pois o aumento do diâmetro aumenta a proporção do volume escuro muito rapidamente (<u>reduz a produtividade</u>).</p> <p>Não é possível torná-los <u>muito altos</u>, pois a pressão na base dificulta a passagem das bolhas de ar.</p>	<p>Não é fácil construir flatplates muito longos devido à dificuldade dessa geometria em suportar a <u>pressão hidrostática</u>.</p> <p>Quando <u>verticais</u> são fracos coletores de luz em muitos momentos do dia</p>	<p>Os mais caros de se construir.</p> <p>Um problema bastante comum no biorreator tubular é o estresse hidrodinâmico causado pelo tipo de bombeamento utilizado, que resulta em dano celular</p>

3.5 ETANOL

O etanol é um biocombustível obtido a partir de matéria orgânica vegetal rica em açúcares, que se consegue por meio de fermentação dos mesmos. Como matérias primas para a elaboração do etanol, se adentram cultivos agrícolas, resíduos florestais, algas e outras biomassas com altos teores de amido/carboidrato.

Segundo John et al. (2011), o Brasil, os Estados Unidos e o Canadá são os países que mais produzem etanol. Além de ser produzido a partir dos mais diversos tipos de matérias-primas, o etanol é menos tóxico se comparado a outros biocombustíveis, é facilmente biodegradável e seu uso emite menos poluentes em relação aos combustíveis derivados do petróleo. O etanol é comumente produzido pelo processo bioquímico da fermentação.

Entre as vantagens do uso do etanol, um fato comprovado é que sua produção leva a uma diminuição do preço do combustível. Também aumenta o número de octanas, o que melhora a eficiência da combustão nos motores, juntamente com sua natureza biodegradável, que favorece a abordagem de problemas ambientais. Outro benefício é o cultivo versátil que permite sua distribuição geográfica, desempenhando um papel importante no desenvolvimento, comercialização e abrindo uma gama de possibilidades socioeconômicas para muitos setores (T. SILALERTRUKSA, 2012). Em função da matéria-prima utilizada para a obtenção do etanol, pode-se classificá-lo em três distintos grupos: primeira, segunda e terceira geração.

A *Tabela 2* apresenta as três gerações distintas de etanol comparando suas vantagens e desvantagens.

Tabela 2: Classificação dos tipos de biocombustíveis, em relação a matéria de produção, relacionando as vantagens e desvantagens de cada. Fonte: Acervo pessoal.

Geração	Matéria-Prima	Vantagem	Desvantagem
Primeira	Oleaginosas, Cana de Açúcar e outros alimentos	Baixo custo e tecnologia já desenvolvida	Compete diretamente com o preço dos alimentos . Utilização da área cultivável para produção de cana ao invés de outros alimentos.
Segunda	Biomassa Ligno-celulósica: Resíduos agrícolas e florestais de baixo custo (cascas, folhas, palha)	Não compete com a alimentação	Alto custo na remoção da lignina para produção do combustível. Como consequência da composição da lignina, o desempenho desta geração é médio .
Terceira	Algas	<ul style="list-style-type: none"> • Não precisa de grandes áreas para cultivo • Não compete com os alimentos • Tem ciclos de produção curtos • Possui elevado rendimento 	Maior consumo de energia, utilizada no cultivo das algas.

3.5.1. Primeira Geração

O etanol de primeira geração é obtido a partir da fermentação da glicose. Estados Unidos e o Brasil são os maiores produtores desta geração através da cana-de-açúcar e do milho. Na Europa são as culturas de batata, beterraba e trigo escolhidas para a obtenção do etanol. A maior desvantagem de se utilizar tais matérias-primas se encontra na ameaça de limitar o acesso da população a produtos alimentares básicos (RIBEIRO, 2013).

3.5.2. Segunda Geração

Como possível alternativa ao uso de matérias-primas que comumente são utilizadas como alimento básico, outra forma de obtenção de etanol é baseada em um processo que utiliza lignocelulose de resíduos agrícolas e florestais como principal recurso, proporcionando um menor impacto ambiental. Como consequência da composição da lignina, o desempenho desta geração é médio, e, portanto, tal geração não se torna totalmente atraente (SP. GOVUMONI, 2013).

3.5.3. Terceira Geração

Levando em consideração as pejorativas de seus antecessores, a terceira geração surge com mais benefícios. Concentra-se no uso de organismos marinhos, como algas, servindo de recurso para a obtenção do etanol. As algas representam uma alternativa esperançosa por seu alto índice de lipídios e carboidratos, fácil cultivo em uma ampla gama de ambientes aquáticos e grande absorção de dióxido de carbono. Além disso, as algas possuem baixo nível de lignina e hemicelulose, o que aumenta o desempenho do combustível (MA. CARRIQUIRY, 2011).

Neste contexto, o vigente trabalho de conclusão de curso vislumbrou apresentar alternativas atrativas para o uso de microalgas na produção de etanol.

3.5.4. Etapas da produção de etanol a partir da biomassa de microalga

A biomassa de microalga, devido a seus altos teores de açúcares e lipídios, pode ser utilizada como matéria prima para produção de diferentes combustíveis.

A *Figura 3* apresenta as rotas simplificadas da produção do etanol e do biodiesel.

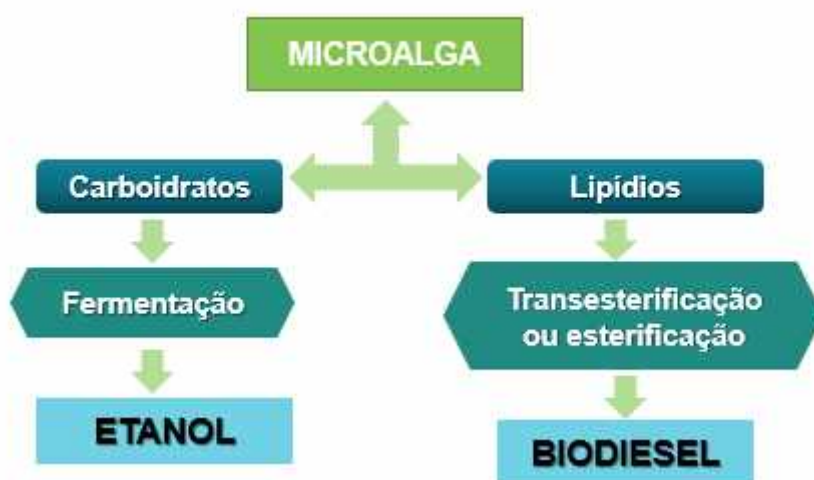


Figura 3: Rotas para produção de Etanol e Biodiesel através da Biomassa de microalga
(Fonte: KOSE, 2016)

O etanol de algas é obtido basicamente por meio da fermentação de seus açúcares. Primeiramente cultivam-se as espécies com maior capacidade de obtenção de açúcares fermentáveis (o preparo da biomassa é essencial para garantir que o rendimento seja o máximo possível). Em seguida, as espécies são colhidas e decompostas, rompendo as paredes celulares e liberando seus polissacarídeos. A partir desta etapa é feita a sacarificação/ hidrólise do amido, nesta etapa, o amido é convertido em açúcares fermentáveis. E, por fim, usam-se micro-organismos, como leveduras e bactérias, para realizar a fermentação da biomassa em decomposição. Desse modo, o etanol é produzido e separado do resto da solução (KOSE, 2016).

3.5.5. Uso da hidrólise na produção de etanol de terceira geração

Uma etapa fundamental para a produção de bioetanol é a hidrólise do carboidrato (sacarificação), que constitui a parede das células de microalgas, a qual está inter-relacionada com a etapa do pré-tratamento, uma vez que esse processo ajuda no rompimento da parede celular (RAZEGHIFARD, 2013).

A hidrólise do carboidrato é importante para torná-lo metabolizável pelos microrganismos que realizam a fermentação (MIRANDA, 2012). Para que isto

ocorra, é necessário realizar o rompimento celular liberando para o meio os produtos intracelulares das microalgas, como o lipídio e carboidrato (BRENNAN et al., 2009). Em geral, produtos químicos ou utilização de enzimas são os métodos comuns utilizados para realizar a hidrólise.

Embora a hidrólise ácida seja mais rápida, mais fácil e mais barata do que outros tipos de hidrólise, as condições ácidas podem levar a decomposição dos açúcares em compostos indesejados que inibem a fermentação realizada no processo seguinte de produção (HARUN et al., 2010).

Em contraste, a hidrólise enzimática é mais lenta e muito mais cara do que a hidrólise ácida, mas é um processo eficiente para obter rendimentos mais elevados de açúcares sem a produção de produtos de inibição. Além do problema do custo, a hidrólise enzimática tem outra desvantagem de exigir pré-tratamentos mais complexos (LYND et al., 2012).

4. DISCUSSÃO

4.1 Avaliação das condições de cultivo na produção de biomassa de microalga.

O controle do cultivo ou nas condições ambientais é a forma comumente utilizada para a manipulação da composição da biomassa de microalgas, e maior acumulação de carboidratos na biomassa. O cultivo e fatores ambientais mais frequentemente relatados, que afetam o teor de carboidratos, são o tipo e a concentração da fonte de nutrientes, intensidade de luz e temperatura. Além disso, o modo metabólico (autotróficos, heterotróficos e mixotróficos) afeta a composição da biomassa (MARKOU et al., 2012).

De acordo com estudos de John et al. (2011), algumas espécies de microalgas que mais se adaptam aos parâmetros de produção do etanol são: *Chlorella*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus* e *Spirulina*. Esses microrganismos se destacam por apresentarem altas concentrações de amido e glicogênio em sua composição.

Margarites (2014), em experimentos de produção de etanol a partir de biomassa de *Spirulina* sp., apresentou produtividade de 1,18 g.L⁻¹.h⁻¹ de etanol, utilizando 50% dos carboidratos provindos da sacarificação da biomassa e 50% a

partir da glicose. E, ainda sobre a influência da escolha da espécie de microalga no processo de fabricação do etanol, Costa e Morais (2011) relataram que a microalga *Chlorella vulgaris*, devido a seu alto teor de carboidratos, apresentou excelentes resultados para a produção de etanol tendo conversão de açúcares em etanol acima de 65,0%.

A *Tabela 3* demonstra algumas das espécies de microalgas mais eficazes para a produção de etanol de terceira geração.

Tabela 3: Comparação entre as espécies de microalgas, tipo de hidrólise e fermentadores utilizados para produção do etanol de terceira geração. (Fonte: acervo pessoal)

Algas e microalgas	Tipo de Hidrólise	Fermentador	Bioetanol % (g etanol /g alga)	Fonte
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Ácido	<i>Sccharomyces cerevisiae</i>	29,2	(NGUYEN et al, 2009)
	Enzimático	<i>Sccharomyces cerevisiae</i>	0,235	(CHOI, et al, 2010)
<i>Chlorococcum sp.</i>	Alcalino	<i>Sccharomyces cerevisiae</i>	26,1	(HARUN,2010)
	Ácido	<i>Sccharomyces cerevisiae</i>	10-35	(SHAUKAT,2011)
<i>Chlorococcum humicola</i>	Ácido	<i>Sccharomyces cerevisiae</i>	52,0	(HARUN et al, 2011)
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	Ácido	<i>Sccharomyces cerevisiae</i>	2,46	(KHAMBHATY et al, 2012)
<i>Nannochloropsis sp</i>	Térmico (100-108 °C)	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	9,3	(EFREMENKO et al., 2012)
<i>Saccharima latissima</i>	Ácido / Alcalino	<i>Sccharomyces cerevisiae</i>	0,45	(ADAMS et al.,2009)
<i>Scenedesmus almeriensis</i>	Enzimático	-	-	(GARCIA et al,2012)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Ácido	-	-	(MIRANDA, 2012)
<i>Scenedesmus sp.</i>	Ultrassom (20Hz)	-	-	(GONZÁLES, et al, 2012)
	Térmico (70-80 °C)	-	-	
<i>Schizocytrium sp.</i>	Hidrotermal	<i>Escherichia coli KO11</i>	18,8	(KIM et al, 2012)

Analisando a *Tabela 3*, pode-se perceber que o tipo de hidrólise e o fermentador utilizados em cada caso variam de acordo com as características de cada microalga. Microalgas como *Chlorococcum humicola*, *Schizocytrium sp.*, *Spirogyra* produzem grandes quantidades de etanol por grama de alga.

Spolaore et al. (2006) relataram que é necessário proceder com pesquisas sobre espécies capazes de acumular teores elevados de açúcares e determinar os melhores métodos para sacarificar a biomassa. Matsumoto et al. (2003), por exemplo, procederam utilizando uma seleção de várias espécies de microalgas marinhas ricas em açúcares tendo identificado um total de 76 espécies de microalgas como contendo teores em açúcares entre 40 e 53 % m.m⁻¹.

A acumulação de açúcares pode ser estimulada pela indução de estado de *stress* metabólico. O estado de *stress* geralmente resulta da carência de nutrientes essenciais como nitrato, fosfato e/ou sulfato. Douskova et al (2009) conseguiram induzir uma acumulação de amido de 83, 50 e 33 % na microalga *Chlorella vulgaris*, pela privação de fosfato, nitrato e sulfato, respectivamente. Também estudaram o efeito da inibição da proteossíntese, que se repercutiu na duplicação da quantidade de amido na biomassa.

Outro fator importante a ser estudado na produção da biomassa é a intensidade de luz a qual a microalga deverá ser exposta. Intensidades elevadas de luz resultam em um aumento no conteúdo de carboidratos. Em culturas de espécies *Porphyridium*, foi observado um aumento de 3 vezes de carboidrato, quando a intensidade da luz aumentou cerca de 4 vezes (FRIEDMAN et al.,1991). Conforme Ho et al. (2012), a *Scenedesmus obliquus* obteve a maior produção de biomassa e carboidrato com o aumento da intensidade da luz, até atingir 420 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, após essa intensidade ocorreu o fenômeno da fotoinibição, diminuindo a produção e o acúmulo de carboidrato.

Estudos relacionados ao acúmulo de carboidratos relataram que com déficit de nitrogênio, culturas de *Chlorella vulgaris* acumularam carboidratos de até 38% a 41% (BRÁNYIKOVÁ et al., 2011; DRAGONE et al., 2010), cerca de 35% em *Tetraselmis subcordiformis*, enquanto que a *Spirulina platensis* acumulou 55% a 65% de carboidratos (SASSANO et al., 2010). E, em cultivos de *Spirulina* com limitação de fósforo, foi obtido aumento nos teores de carboidratos de 9% para 65%,

enquanto o teor de proteínas diminuiu de 46,5 % para 25 % em cultivos semi-contínuos (MARKOU, 2012).

Diminuições na concentração de dióxido de carbono causaram um aumento do conteúdo de carboidratos na biomassa de microalgas (THYSSEN et al., 2001). Conforme Abreu et al., (2012) a *Chlorella* acumula mais carboidratos em condições metabólicas mixotróficas. Choix De Bashan et al., (2012) obtiveram maior acúmulo de carboidratos no modo heterotrófico do que sob condições fotoautotróficas, utilizando carbono inorgânico.

Outro parâmetro que afeta o crescimento é a temperatura, que se geralmente aumentada, conduz a um aumento exponencial do crescimento das microalgas até que um nível ótimo seja atingido, e após o crescimento, diminui. Em culturas de *Spirulina* sp. o aumento da temperatura de 25°C para 40°C resultou em um ligeiro aumento dos carboidratos na biomassa onde passou de 14% para 21% (OGBONDA et al., 2007), enquanto que no *Chaetoceros* cf. *wighamii* os acúmulos de carboidratos foram maiores nas temperaturas mais baixas testadas (CASTRO et al., 2005).

4.2 Influência do tipo de biorreator no cultivo de microalgas visando a síntese de etanol.

Nos estudos de Tredici (1998), os biorreatores do tipo *flat-plate* alcançaram produtividades de área mais baixas (cerca de 24 g.m⁻² por dia) sendo comparáveis aos reatores tubulares (cerca de 28 g.m⁻² por dia). O melhor desempenho do último foi atribuído ao fato de que, reatores tubulares, ao contrário dos sistemas de superfície plana, permitem a diluição da luz, reduzindo assim o efeito negativo de saturação de luz e fotoinibição (TREDICI et al., 1998).

Grima et al. (2002) estimaram que uma produção com 75 fotobiorreatores do tipo tubular de 0,8 m³, de \$32,16/kg e 26,2 ton/ano de biomassa seca de *P. tricornutum*, obteria 430 kg de EPA (ômega 3), com produtividade anual de biomassa em cultivo contínuo próxima a 1,25 Kg/m³ /dia. Sato et al., (2006) concluíram que fotobiorreatores tubulares produzem mais biomassa pela esterilização efetiva, controle na transferência de gases e eficiência na utilização da luz. Segundo JORQUERA et al., (2010) o volume de produtividade (g.Ld⁻¹), a concentração de biomassa produzida (g.L⁻¹) e o óleo por área são maiores em

fotobiorreatores tubulares em comparação a sistemas *raceway* (sistemas abertos) e *Flat-plate*. No entanto, estes consomem menos energia (KWh/mês) e têm menor custo inicial. A aplicação de *raceway* é menos favorável, pois limita o controle de contaminações, já que a produção comercial de metabólitos intracelulares de microalgas requer assepsia apropriada (GRIMA et al., 2002).

Um problema bastante comum no biorreator tubular é o estresse hidrodinâmico causado pelo tipo de bombeamento utilizado, que resulta em dano celular. Os principais fatores que estão relacionados ao estresse hidrodinâmico são: geometria do fotobiorreator, que determina a frequência da passagem das células em suspensão pela bomba; o tipo de bomba envolvida; a morfologia celular, e as condições fisiológicas das células (VONSHAK et al., 1982).

Gudin (1991) realizou um experimento feito com a diatomácea *Porphyridium cruentum* em um fotobiorreator tubular e mostrou que a produtividade da cultura dobrou ao se substituir a bomba centrífuga por uma bomba volumétrica.

4.3 Análise da hidrólise ácida e da hidrólise enzimática de biomassa de microalga empregada como substrato para leveduras na síntese de etanol.

A produção de produtos de valor agregado, como o etanol, requer a extração e sacarificação dos carboidratos de forma em que eles possam ser metabolizados por outros microrganismos. Geralmente, é requerido rompimento celular para recuperar esses produtos intracelulares como lipídios e carboidratos (MIRANDA et al, 2012).

Segundo Ho et al. (2013), a vantagem de algumas espécies de microalgas é que o principal monossacarídeo derivado dos polissacarídeos é a glicose. Em seus estudos com *Chlorella vulgaris*, 90% dos monossacarídeos obtidos após hidrólise química e enzimática eram glicose.

No caso da hidrólise ácida, a utilização de um ácido de concentração moderada é desejável para reduzir custos e evitar a degradação indesejada de compostos no hidrolisado (MIRANDA et al, 2012). O tratamento com ácido sulfúrico diluído a altas temperaturas (120-160 ° C) mostrou-se um método muito eficaz de hidrólise (MIRANDA et al., 2012).

Entretanto, segundo Lorenzi (2016), o melhor rendimento de glicose na hidrólise ácida foi obtido na condição de 5% ácido sulfúrico à 120°C, com 6,6 g L⁻¹ de glicose (13% em relação a biomassa inicial), 0,02 gL de furfural e 0,04 gL de HMF (Hidroximetilfurfural). O percentual de glicose, em todos os testes de hidrólise, foi muito menor do que o conteúdo de carboidratos totais da biomassa (48%), o que pode indicar que talvez a hidrólise ácida não tenha sido suficiente para romper as ligações dos polissacarídeos de amido e celulose, e que açúcares ainda podiam se encontrar na forma de dissacarídeos e trisacarídeos.

O principal obstáculo da hidrólise enzimática é que os grânulos de amido estão ligados com paredes celulares rígidas, logo é necessário um pré-tratamento para quebrar essa parede celular e liberar os polissacarídeos (CHOI et al., 2010).

Wang et al. (2012) estudaram a extração ideal e a hidrólise de proteínas de *C. pyrenoidosa* por três enzimas. Segundo os autores, os resultados indicaram que a baixa temperatura e a maior pressão (6 °C e 160 MPa) melhorou a quebra da parede celular e a extração (45,78%). Com isso, nos experimentos de hidrólise proteica com a enzima alcalase, obteve-se os maiores graus de hidrólise (18,31%) comparada a papaína (14,33%) e a tripsina (8,47%). Nesta tese, maiores graus de hidrólise foram obtidos com papaína, o que provavelmente se deve as diferentes condições reacionais.

A *Tabela 2* demonstra as diferentes porcentagens obtidas de glicose a partir das hidrólises ácida e enzimática em diferentes condições de operação.

Tabela 2: Porcentagem dos teores de glicose obtidos através de hidrólises ácida e enzimática da biomassa de microalga em diferentes condições de operação. Fonte: Miranda 2010

Hidrólise	Condição		Teor de glicose (%)
Ácida	Temperatura (°C)	80	0,85 ± 0,07
		100	10,03 ± 0,16
		120	12,03 ± 0,47
	Concentração H ₂ SO ₄ (%)	1	4,71 ± 0,69
		5	13,18 ± 1,00
		10	12,03 ± 0,47
Enzimática	Celulase		1,50 ± 0,29
	α-amilase		14,51 ± 3,55
	α-amilase + amiloglicosidade		25,25 ± 4,10

A combinação entre os dois tipos de hidrólise também foi testada por Hernandez et al. (2015) que encontraram para a microalga *Chlorella sorokiniana* cerca de 70,8% de glicose após pré-tratamento ácido mais adição de enzima *Liquozyme SC DS* (mistura de α-amilase e amiloglicosidade). Ho et al. (2013), utilizaram uma mistura de celulase, β-glucosidase e amilases para hidrolisar a microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E e obtiveram um rendimento de 90,4% de glicose sob condições ótimas de concentração de biomassa e composição da mistura enzimática.

5. CONCLUSÃO

A variabilidade de processos existentes para a produção de bioetanol a partir de microalgas possibilita a inserção de práticas eficazes, contudo, revela-se neste estudo que para uma metodologia ser consistente, vários parâmetros devem ser analisados, como a escolha da microalga utilizada como matéria-prima, os tipos de pré-tratamentos as quais serão submetidas, e até a escolha dos biorreatores. Essas etapas, além de visar a um bom rendimento, devem ser minuciosamente analisadas para evitar o uso de reagentes desnecessários, minimizar resíduos e, conseqüentemente, criar um processo ambientalmente correto. Sendo assim, a busca para tornar viável economicamente a produção de bioetanol a partir da biomassa microalgal, faz com que diversos estudos necessitem ser realizados, principalmente avaliando a espécie de microalga que possui maior potencial e as condições do sistema de cultivo, bem como as formas para aumentar a porcentagem de carboidrato na célula.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, J.M *et al*; J. Appl. Phycol., Vol. 21, p.569-574, 2009.
- AYRES, R.U. *et al*. *Cruzando a fronteira da energia: dos combustíveis fósseis para uma fonte de energia limpa*. bookman, 2012.
- AZUAGA, P *et al*; *Danos ambientais causados por veículos leves no Brasil*. Tese de mestrado em Engenharia – UFRJ, 2000.
- BEN. “Balanço energético nacional”; 2010. Disponível em : <<http://ben.epe.gov.br/>> (acesso em 2020).
- BOROWITZKA, M. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70(1-3): 313-321.
- BRAGION, N. *et al*; “Variáveis que sustentam o período atual de produção de bioetanol.” *Revista de Administração e Inovação*, 2012: 126-140.
- BRÁNYIKOVÁ, I. *et al*; *Microalgae-novel highly efficient starch producers*. *Biotechnol Bioeng.*, v. 108, n. 4, p. 766–776, 2011.
- BRENNAN, L., P *et al*; “*Sust. Energ. Rev.*”; vol 14. p.557-577. 2009.
- BUENO, R. *et al*; “*Energia e desenvolvimento sustentável: As fontes alternativas de energia e a política energética no âmbito nacional e internacional.*” 2010.
- CARDOSO, A.S *et al*; “O uso de microalgas para a obtenção de biocombustíveis.” *Revista Brasileira de Biociências*, 2011: Vol 9, issue 4, 542-549.
- CASTRO, A.S. *et al*; “Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros cf. wighamii brightwell* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels.”; v. 246, n. 1-4, p. 405-412, 2005.
- CHENG, W. *et al*; “An industrial-size flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis sp.* (Eustigmatophyceae).” 2001.
- CHISTI, Y. *Biodiesel from microalgae beats bioethanol*. *Trends in Biotechnology*, v. 26, p. 126–131, 2008.
- CHOI, S. P. *et al*; Enzymatic pretreatment of *Chlamydomonas reinhardtii* biomass for ethanol production. *Bioresource Technology*, (2010).
- 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*, v. 51, p. 300–309, 2012.

- COSTA, J.A. *et al*; *The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae*. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 2-9, 2011.
- DERMIBAS, A. "*Energ. Convers. Manage*"; 2010: vol 51, 2738-2749.
- DÍAZ-PALMA, P., *et al*; . *Bioeng.*, Vol. 113. p. 730-736. 2012.
- DOUSKOVA I. *et al*; *Microalgae as a means for converting flue gas CO2 into biomass with high content of starch*. *Proceedings of the International Conference: Bioenergy: Challenges and Opportunities*, 6-9 Abril, 2008.
- DRAGONE, G., B. *et al*; "*Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*." p.1355-1366. 2010.
- DURÃES, F.O.M; "*Fontes alternativas de energia e perspectivas do uso de agroenergia no mundo .*" *Em Savanas: Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócios e recursos naturais*, 837-839. 2013.
- EFREMENKO, E.M. *et al*.; *Bioresource Technol.*, Vol. 114, p.342-348, 2012.
- EHIMEM, E.A. *et al* ; "*Fuel*"., Vol. 89. p.677-684. 2010.
- ENERGIA. "*Energias renováveis: De onde são e porque utiliza-las.*" 2006. www.aondevamos.eng.br.
- FILIZOLA, H. F. *et al*; *Coleta e impregnação de amostras de solo para análise micromorfológica*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 4 p. il.
- FRIEDMAN, O. *et al*; *Effect of light intensity on growth and polysaccharide production in red and blue-green Rhodophyta unicells*. *Bioresource Technology*, v. 38, n. 2–3, p. 105–110, 1991.
- GARCIA, J.M.R. *et al* ; *Bioresource Technol.*, Vol. 112, p.164-170, 2012.
- GIRIO, F. M. *et al*; *Hemicelluloses for fuel ethanol: a review*. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 13, p 4775–4800, 2010.
- GRIMA *et al.*, "*Rouyer Nature*", 420 (2002), pp. 178-182
- GUDIN, *et al.*; "*Cell fragility*" – *The key problem of microalgae mass production in closed photobioreactors*. *Bioresource Technology*, v. 38, p. 145-151, 1991.
- GOLDEMBERG, J. "*Energia, Meio Ambiente e Desenvolvimento.*" 3 ed. São Paulo - USP, 2009.
- GOLDENSTEIN, M *et al*; "*Panorama da indústria de pneus no Brasil: ciclo de investimentos, novos competidores e a questão do descarte de pneus inservíveis.*" <http://www.bndes.gov.br/bibliotecadigital>, s.d.
- GONZÁLES-FERNÁNDEZ, C.*et al*; *Bioresource Technol.*, Vol. 110, p.610-616, 2012.

- GUARIERO, L. L. N., P. C. Vasconcellos, e M. C. Solci. “*Poluentes Atmosféricos Provenientes da Queima de Combustíveis Fósseis e Biocombustíveis: Uma Breve Revisão.*” *Revista virtual de química*, 2011: 434-445.
- HARUN, R *et al.*; *Process Biochem.*, Vol. 46, p.304-309, 2011.
- HARUN, R.*et al.*; *Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, p. 1037–1047, 2010.
- HERNANDES, D. *et al.*; *Saccharification of carbohydrates in microalgal biomass by physical, chemical and enzymatic pretreatments as a previous step for bioethanol production.* *Chemical Engineering Journal*, v. 262, p. 939-945, 2015.
- HO, S. H *et al.* *Bioethanol production, using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock.* *Bioresource Technology*, v. 135, p. 191-198, 2013.
- HO, S. H. *et al.*; *Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga Scenedesmus obliquus CNW-N.* *Bioresource Technology*, v. 113, p. 244–252, 2012.
- IEA, INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. “CO₂ Emissions from fuel combustion.” 2009. http://www.iea.org/textbase/nppdf/free/2009/key_stats_2009.pdf.
- JOHN, R.P. *et al.*; “*Bioresource technol.*, Vol. 102.” p. 186-193. 2011.
- JORQUERA, M.A. *et al.*; *Isolation of culturable phosphobacteria with both phytate-mineralization and phosphate-solubilization activity from the rhizosphere of plants grown in a volcanic soil.* *Biol. Fertil. Soils* 44, 1025-1034, 2010.
- KHAMBHATY, Y.; *et al.*; *Bioresource Technol.*, Vol. 103, p.180-185, 2012.
- KIM, J.K. *et al.*; *Chem. Eng.*, Vol. 29, p.209-214, 2012.
- KOSE, A., *Algae as a promising resource for biofuel industry: facts and challenges.* *International Journal of Energy Research.* 41; 924-951, 2016.
- LORENZI, J. *Microalga como substrato na produção de ácido láctico*; dissertação de mestrado, Universidade de Campinas, 2016.
- LAM, M. K *et al.*; “*Cultivation of Chlorella Vulgaris in a Pilot-Scale Sequential Baffled Column Photobioreactor for Biomass and Biodiesel Production.*” *Em Energy Conversion and Management*, vol. 88. 2014.
- LEE, J. *et al.*; *Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae.* *Bioresource Technology*, 2010.
- LYND, L. R *et al.*; *Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology.* *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 66, n. 3, p. 506–577, 2012.

- MA CARRIQUIRY, X. *et al*; “Second generation biofuels: economics and policies., .” 2011.
- MARGARITES, A. C. F. *Síntese de carboidratos por microalgas e produção de bioetanol*. Tese de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande/RS, 2014.
- MATRIZ. “Matriz brasileira possui 3% de energias alternativas.” A Tarde. Caderno de economia, 30 de Abril de 2006.
- MARKOU, G. Alteration of the biomass composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Bioresource Technology*, n. 116, p. 533-535, 2012.
- MARKOU, G *et al*; *Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels*. *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 96, p. 631–645, 2012.
- MCKENDRY, P. “Energy production from biomass (part 1): Overview of biomass.” *Bioresource Technology*. 83,37-46, 2012. 83,37-46.
- MIRANDA, J. R. P.C.; *Produção de Bioetanol a Partir da Microalga Scenedesmus obliquus*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Energia e Bioenergia; 2010.
- MIRANDA, J. R. *et al*; L. *Bioethanol production from Scenedesmus obliquus sugars: the influence of photobioreactors and culture conditions on biomass production*. *Appl Microbiol Biotechno*, v. 196, p. 555–564, 2012.
- MOXLEY, G. *et al*; *More accurate determination of acid-labile carbohydrates in lignocellulose by modified quantitative saccharification*. *Energy Fuels*, v. 21, n. 6, p. 3684– 3688, 2007.
- MY., Menetrez. “An overview of algae biofuel production and potencial enviromental impact.” 2012.
- Nguyen, M.T. *et al*.; *J. Microbiol. Biotechn.*, Vol. 19, p.161-166, 2009.
- OGBONDA, K. H *et al*; Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina sp.* *Bioresource Technology*, v. 98, n. 11, p. 2207–2211, 2007.
- OIJEN, T. V. *et al*; Enhanced carbohydrate production by Southern Ocean phytoplankton in response to in situ iron fertilization. *Marine Chemistry*, 2005.
- PACHECO, Fabiana. “*Energias renovaveis: Breves conceitos*.” Outubro de 2006.
http://files.pet-quimica.webnode.com/200000109-5ab055bae2/Conceitos_Energias_renov%C3%A1veis.pdf.

- PANORAMA. “*Panorama da energia eólica.*” 2007. www.eolica.com.br (acesso em 2020).
- PECHENE, O.I.N. “*Tendencias actuales en la producción de Bioetanol.*” Monografía. Popayán, 30 de 04 de 2018.
- RAMOS, Carlos G. “Aprovechamiento de residuo algal para la obtención de bioetanol de tercera generación.” *Monografía*. Vigo, 27 de setembro de 2018.
- RAZEGHIFARD, R. Algal biofuels. *Photosynthesis Research*, v. 117, p. 207–219, 2013.
- RIBEIRO., BE. “, Beyond commonplace biofuels: social aspects of ethanol.” 2013.
- SASSANO, C. E. N. *et al*; *Evaluation of the composition of continuously-cultivated Arthrospira (Spirulina) platensis using ammonium chloride as nitrogen source.* Biomass Bioenergy, v. 34, n. 12, p. 1732–1738, 2010.
- SATO, T. *et al*, *Invention of outdoor closed type photobioreactor for microalgae.* *Energy conversion and Management*, Oxford, v17, p791-799, 2006.
- SEIFFERT, M. E. B. “*Mercado de carbono e protocolo de Quioto: oportunidades de negocios na busca da sustentabilidade.* .” São Paulo: Atlas, 2009.
- SEVILLA, J. M; *Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas* (UAL),Universidad de almería,2014.
- SHAUKAT, S.S.; *Progress in Biomass and Bioenergy Production*; InTech; 2011. 444p.
- SINGH, J., S. *et al*; “*Sust. Energy. Rev.*” Vol. 14, p.2596-2610,. 2010.
- SP. GOVUMANI S. *et al*; “*Evaluation of pretreatment methods for enzymatic saccharification of wheat straw for bioethanol production.*” 2013.
- SPOALARE, P. *et al*; *Commercial applications of microalgae.* J. Biosci. Bioeng., 101 (2): 87–96, 2006.
- SUALI, E., R. *et al*; “*Sust. Energy. Rev.*” Vol. 16, p.4316-4342. 2012.
- T. SILALERTRUKSA, B. *et al*; *iofuels and employment effects: Implications for socioeconomic development in Thailand.*” 2012.
- THYSSEN, C. *et al*; “*The CO₂-concentrating mechanism in the physiological context: lowering the CO₂ supply diminishes culture growth and economises starch utilisation in Chlamydomonas reinhardtii.*” *Planta*, v. 213, n. 4, p.629–639, 2001.
- TEIXEIRA, E.C. *et al*; *Estudo das emissões de fontes móveis na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul.* Quím. Nova [online]. 2008, vol.31, n.2, pp.244-248.

TREDICI, M.R., Inc. *Biotechnol Bioeng* 57: 187–197, 1998.

VONSHAK A *et al*; *On the production of Spirulina biomass: effects of environmental factors and of the population density*. *Biomass* 2: 175–185; 1982.

WANG, C. *et al*; *The Evolution of Social Commerce: The People, Management, Technology, and Information Dimensions*, 2012.