

REVISÃO: SEQÜESTRO DE CARBONO REALIZADO POR MICROALGAS E FLORESTAS E A CAPACIDADE DE PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS PELAS MICROALGAS

REVISION ON CARBON SEQUESTRATION BY MICROALGAE AND FORESTS AND THE PRODUCTION OF LIPIDS FOR THE MICROALGAE

Silvana Ohse¹

Roberto Bianchini Derner²

Renata Ávila Ozório³

Paulo César Roberto Cunha⁴

Claudia Pavan Lamarca⁴

Márcia Estevão dos Santos⁴

Leonardo Brantes Bacellar Mendes⁴

RESUMO

A elevação da temperatura média do planeta, ou seja, o aumento do efeito estufa, é resultante do acúmulo de gases capazes de reter calor. Um dos principais gases de efeito estufa (GEE) é o dióxido de carbono (CO_2), resultante do processo de decomposição da matéria orgânica e de todo e qualquer processo de combustão. Segundo especialistas, o aumento do efeito estufa pode causar sérias alterações climáticas e, com isso, ambientais, por essa razão, tem-se buscado estimular o seqüestro de carbono. Seqüestrar carbono tem como significado adotar medidas que visem à absorção do excesso de CO_2 da atmosfera, fixando-o, preferencialmente na forma orgânica. Embora a fixação de carbono seja realizada por todos os seres fotossintetizantes é, nos oceanos, que se dá em maior intensidade. Por essa razão, buscou-se fazer um levantamento sobre a capacidade de seqüestro de carbono por microalgas, tanto de água doce quanto de ambiente marinho, comparando-a com as florestas, atentando também ao seu

¹ Professora do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade/UEPG. Dra. em Fitotecnia, sohse@uepg.br
Av. Carlos Cavalcanti, 4748, Campus Uvaranas, Ponta Grossa/PR, Cep.:84030-900

² Dr. em Ciência dos Alimentos. Pesquisador da FAPEU/LCM/UFSC

³ Mestranda do curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos/UFSC

⁴ Pesquisadores do CENPES-PETROBRAS. Fonte financiadora PETROBRAS.

potencial de produção de lipídios, uma vez que, há grande preocupação em encontrar fontes potenciais para produzir biodiesel, visando minimizar o uso de combustíveis fósseis, buscando com isso reduzir as emissões de CO₂.

Palavras-chave: Microalgas, seqüestro de carbono, produtividade, ácidos graxos, biodiesel.

SUMMARY

The rise of the average temperature of the planet, that is, the increase of the effect greenhouse, is resultant of the accumulation of gases capable to hold back heat. One of the main gases of effect greenhouse (GEE) it is the carbon dioxide (CO₂), resultant of the process of decomposition of the organic substance and all and any process of combustion. According to specialists, the increase of the effect greenhouse can cause serious climatic alterations and, with this, ambient, therefore, they have searched to stimulate the carbon kidnapping. To kidnap carbon has as meant to adopt measured that they aim at to the absorption of the CO₂ excess of the atmosphere, fixing it, preferential in the organic form. Although the carbon setting is carried through by all the photosynthetics beings is, in the oceans, that if of the one in bigger intensity. Therefore, the objective of this revision was to search to make a survey on the capacity of carbon kidnapping for microalgae, as much of water marine environment candy how much, comparing it with the forests, also attempting against to its potential of production of lipids, a time that, has great concern in finding sources potential to produce biodiesel, aiming at to minimize the fossils fuel use, trying with this to reduce the CO₂ emissions.

Key-words: Microalgae, carbon sequestration, productivity, fatt acids, biodiesel

INTRODUÇÃO

Há muito vem se questionando sobre o efeito estufa, o qual é resultante do acúmulo de gases capazes de reter calor, ou seja, reter certos comprimentos de onda, elevando a temperatura média do planeta. Um dos principais gases causadores do efeito estufa é o dióxido de carbono (CO₂), resultante do processo de decomposição da matéria orgânica e de todo e qualquer processo de queima ou combustão (respiração).

Recentemente, devido à queima de enormes quantidades de combustíveis fósseis vem ocorrendo aumento do teor de CO₂ atmosférico, causando o efeito estufa. Globalmente, 20 bilhões de toneladas de CO₂, oriundas da queima de combustíveis

fósseis, são emitidas a cada ano e outras 2 a 8 bilhões de toneladas são liberadas através da oxidação acelerada pela atividade humana, tais como: a agricultura intensiva, desmatamento, preparo convencional do solo e outras atividades insustentáveis, sendo que somente a indústria americana emite cerca de 1,8 bilhões de toneladas métricas de CO_2 por ano (Vitousek, 1994). Surge, então, a preocupação em reduzir a liberação desse gás para a atmosfera. Um dos possíveis caminhos para a obtenção desse objetivo é a redução das queimadas, desmatamentos, revolvimento do solo, utilização de transporte ferroviário, entre outros. Contudo, os organismos produtores (autotróficos), durante o processo de síntese, consomem CO_2 e liberam O_2 sendo este último, necessário à respiração de todos os seres vivos, incluindo o homem.

A vida na Terra depende, em última análise, da energia proveniente do sol. A fotossíntese é o único processo de importância biológica que pode aproveitar essa energia. Pode-se dizer que uma grande fração dos recursos energéticos do planeta resulta da atividade fotossintética em épocas recentes ou passadas (combustíveis fósseis). O termo fotossíntese significa, literalmente, “síntese utilizando luz”. Os organismos fotossintetizantes utilizam a energia solar para sintetizar compostos carbonados que não poderiam ser formados sem um *input* de energia. Mais especificamente, a energia luminosa dirige a síntese de carboidratos a partir de dióxido de carbono e água com liberação de oxigênio (Taiz & Zeiger, 2004).

O planeta Terra possui cerca de 70% de água, sendo que 97% dessa encontram-se nos oceanos. É também nos oceanos, que ocorrem cerca de 50% da fixação do CO_2 , além disso, muitas vezes o processo de fixação (fotossíntese) supera o processo de liberação (respiração), fato que ocorre na zona eufótica e isso se dá graças à presença de uma infinidade de espécies de minúsculos seres fotossintetizantes, chamados de microalgas. Por essa razão, o objetivo desta revisão foi buscar fazer um levantamento sobre a capacidade de seqüestro de carbono por microalgas, tanto de água doce como de ambientes marinhos, comparando-a com as florestas, além de atentar para sua capacidade de produzir lipídios, visando minimizar o uso de combustíveis fósseis, buscando com isso reduzir as emissões de CO_2 .

REVISÃO DE LITERATURA

1 Efeito estufa e seqüestro de carbono

A revolução industrial trouxe consigo um rápido desenvolvimento econômico e um melhoramento ótimo em nossa qualidade de vida. Como resultado, isso também tem se tornando uma enorme sobrecarga à natureza. A combustão de combustíveis fósseis tem especialmente aumentado as emissões de CO_2 na atmosfera, o qual é causador do chamado efeito estufa ou aquecimento global.

O efeito estufa é um fenômeno natural, ou seja, existe na natureza, independente da ação do homem e das atividades econômicas. Ele é causado pela presença de determinados gases na atmosfera terrestre e, por este motivo, estes gases são chamados de gases de efeito estufa (GEE). Sem a ajuda do efeito estufa, o sol não conseguiria aquecer o planeta Terra o suficiente para que ele fosse habitável, pois a temperatura média do planeta estaria em torno de 17°C negativos e sua superfície coberta de gelo. O efeito estufa garante que a temperatura média do planeta esteja atualmente próxima aos 15°C, portanto mais ou menos 32°C acima do que seria sem ele. Além disso, sem o efeito estufa, o planeta estaria sujeito a variações bruscas de temperatura entre a noite e o dia, como acontece na lua e também nos desertos (Raven *et al.*, 2001).

Os raios de luz penetram a atmosfera, atingem a superfície da Terra e voltam ao espaço. Ao atingir a superfície do planeta, estes raios mudam de características físicas e transformam-se em calor. Uma parte deste calor, emitida agora pela Terra e que está prestes a retornar para o espaço, é aprisionada na atmosfera justamente devido à presença dos gases de efeito estufa, tais como: Vapor d'água (H₂O); Ozônio (O₃); Dióxido de carbono (CO₂); Metano (CH₄); Óxido Nitroso (N₂O); Clorofluorcarbonos (CFCs); Hidrofluorcarbonos (HFCs); Perfluorcarbonos (PFCs) e Hexafluoreto de Enxofre (SF₆). O efeito estufa consiste no aprisionamento na atmosfera de parte do calor gerado pela interação da luz solar com a atmosfera e superfície da Terra que seria refletido de volta ao espaço.

Anualmente, uma grande quantidade de carbono advindo da queima de combustíveis fósseis e de mudanças do uso da terra é lançada à atmosfera. Como consequência, há o aumento da concentração de gás carbônico (CO₂). Todavia, nenhum dos cálculos das concentrações dos gases estufa, e o respectivo aquecimento nos próximos cem anos, leva em conta os “feedbacks” (re-alimentação) que virão da biosfera e das comunidades microbiológicas e de plantas em particular, enquanto a temperatura aumenta e o clima muda.

Muitos dos “feedbacks” biosféricos dependem das variações esperadas para o ciclo do carbono, durante o qual o carbono é armazenado por massas de terras e oceanos, liberado para a atmosfera e, novamente absorvido nas massas de terra e de oceanos. O consenso científico é que podemos esperar significativas quantidades extras de CO₂ a serem liberados à atmosfera no futuro, pois as plantas e microrganismos mudam seu comportamento em reação ao aumento da temperatura. (Sournia, 1974; Sinclair, 1991).

Além disso, pesquisas indicam que as áreas cobertas pelas florestas diminuirão drasticamente dos atuais 23% da área total florestada do mundo, para menos de 1%. Estima-se que haverá adição de 80-100 milhões de toneladas de CH₄ à atmosfera e a temperatura global poderá aumentar em 3°C para o ano de 2100 (Sinclair, 1991).

Deve-se considerar, também que, existem inúmeras reações nos oceanos que também liberam dióxido de carbono na atmosfera. Em princípio, os oceanos não absorverão convenientemente o CO₂ extra na atmosfera na mesma velocidade em que o mesmo será emitido. Se houver um aumento de 10%, os oceanos absorverão cerca de 1%. Além disso, como as águas superficiais dos oceanos se aquecem, elas não serão capazes de absorver tanto CO₂ como o fazem no presente e, como os oceanos sofrerão aquecimento, o carbono orgânico dissolvido sofrerá decomposição mais rápida, liberando novamente quantidades crescentes de CO₂ à atmosfera (Sinclair, 1991).

A combinação de todos os fatores envolvidos no aquecimento e mudança climática levou à conclusão de que se faz necessário a redução imediata de 60-80% das emissões de CO₂ e de outros gases estufa. Um aumento maior que o dobro da concentração atual dos gases estufa seria um risco inaceitável e, no momento, tem-se que a concentração dobrará por volta do ano 2025 (Brown, 1993).

De acordo com especialistas de todo o mundo, esse aumento da concentração de gás carbônico pode resultar em mudanças permanentes no clima, imprimindo novos padrões no regime dos ventos, na pluviosidade e na circulação dos oceanos, acarretando profundas modificações nas condições de vida na Terra. Assim sendo, tem-se um consenso mundial de que estratégias devem ser estudadas e empregadas para redução da concentração do CO₂ atmosférico, na tentativa de reduzir o risco de eventuais catástrofes mundiais (Soares & Oliveira, 2002).

A emissão de dióxido de carbono e outros gases causadores do efeito-estufa na atmosfera devem aumentar, devido principalmente à demanda crescente de energia gerada pelo desenvolvimento mundial (U.S. Department of Energy, 1997). A maior parte da emissão antropogênica de CO₂ resulta da combustão de combustíveis fósseis para a produção de energia.

Esse tema tem gerado um debate mundial sobre as mudanças climáticas globais e estimulado o desenvolvimento de estratégias corretivas. Trabalhos nessa área incluem o seqüestro de CO₂ através da produção de biomassa seca, efetuada principalmente pelas microalgas aquáticas (Miao & Wu, 2004; Miao *et al.*, 2004) e plantas terrestres, dentre estas, principalmente as componentes das florestas (Reijnders & Huijbregts, 2003; Pervaiz & Sain, 2003; Zhang & Xu, 2003). Estima-se que em 1850 (época da disseminação da Revolução Industrial) a quantidade de CO₂ na atmosfera era de 270 ppm. Hoje, essa quantidade é de aproximadamente 360 ppm, um aumento de 33%. A cada ano cerca de 6 bilhões de toneladas de CO₂ são lançadas na atmosfera do planeta (Raven *et al.*, 2001).

Os cientistas ainda não estão de acordo se o efeito estufa já está ocorrendo, mas preocupam-se com o aumento de dióxido de carbono na atmosfera a um ritmo médio de 1% ao ano. A queima da cobertura vegetal nos países subdesenvolvidos é responsável por 25% desse aumento. A maior fonte, no entanto, é a queima de combustíveis fósseis, como o petróleo, principalmente nos países desenvolvidos. O

aumento da temperatura também provocaria a multiplicação de ervas daninhas e insetos e a transferência das pragas de clima quente. A absorção do excesso de carbono faria a vegetação crescer mais rapidamente e retirar mais nutrientes do solo. Por essa razão, tornou-se uma preocupação mundial a redução do acúmulo gradativo de CO₂ (dióxido de carbono ou gás carbônico) e outros gases da atmosfera.

O fato de o clima sofrer variações naturais a “longo prazo” (milhares de anos) acaba dificultando e confundindo a opinião pública, governantes e pesquisadores. Interesses econômicos também afetam decisões políticas que poderiam coibir mais efetivamente o lançamento indiscriminado de agentes poluentes na natureza (Rodher *et al.*, 1998).

Em 1997, em Kyoto – Japão, centenas de países assinaram o compromisso de redução de 5,2% das emissões de gases, com base nos dados de 1990, o qual deve ser implementado entre os anos de 2008 e 2012. No Protocolo de Kyoto, foram incluídos “Mecanismos de Flexibilização e do Desenvolvimento Limpo” estabelecendo que empresas poluentes possam compensar seu montante de emissão, investindo em projetos que comprovem o “seqüestro de carbono” (Parry *et al.*, 1998).

O termo “seqüestro de carbono” surgiu como consequência da real necessidade de redução de emissão de gás carbônico na atmosfera. Seqüestrar carbono tem como significado adotar medidas que visem à absorção do excesso de CO₂ da atmosfera, fixando-o, preferencialmente na forma orgânica.

Entre inúmeros exemplos de seqüestro de carbono tem-se: reflorestamento de áreas degradadas para atender a indústria moveleira. As árvores absorvem o CO₂ e liberam o oxigênio, através da fotossíntese. Mesmo após o corte, o carbono permanece no solo, ou melhor, nas raízes e nos restos de folhas e galhos não exportados da área. A madeira destinada à indústria moveleira tem vida útil de algumas décadas, mantendo o carbono imobilizado. Além disso, a cobertura vegetal evita que os raios solares incidam diretamente sobre o solo, reduzindo a “queima” (oxidação) da matéria orgânica que é rica em carbono. Também, as queimadas, liberam grande quantidade de dióxido de carbono. Portanto, embora se admita hoje que o mesmo oxigênio liberado durante a fotossíntese é absorvido pelas próprias árvores para realimentar o processo, existem outros parâmetros que merecem consideração.

Mesmo sabendo que o mar é, naturalmente, responsável por cerca de 80 a 90% da liberação de oxigênio para a atmosfera - e conseqüente fixação de CO₂ - por meio do fitoplâncton, não invalida pequenas ações feitas tanto na área continental quanto nos oceanos. Até porque, o conjunto de pequenas ações, além de ter resultados que na soma tornam-se significativos, produzem também efeitos positivos indiretos com grandezas quase que imensuráveis. É o caso da conscientização da população que, ao praticar pequenas ações, torna-se mais esclarecida e comprometida com a questão (Falkowski & Raven. 1997).

Entre as estratégias para redução da concentração de gás carbônico na atmosfera, além do seqüestro do carbono através do plantio e manejo de florestas, destacam-se: i) a redução das emissões por queima de combustíveis fósseis. O que inclui a substituição parcial de combustíveis fósseis por biológicos; ii) a redução da queima de material vegetal. Considerando que a redução da queima de combustíveis fósseis implica desaquecimento da economia de países desenvolvidos e que as mudanças no uso da terra, principalmente devido aos desmatamentos, dificilmente deixarão de ocorrer, tendo em vista o crescimento da população mundial e a necessidade de abertura de novas áreas para atividades agrícolas e de pecuária, o seqüestro de carbono por florestas torna-se uma atividade econômica atrativa, desde que remunerada adequadamente, e ambientalmente correta (Soares & Oliveira, 2002).

O Protocolo de Kyoto prevê a formação de um mercado internacional em que o seqüestro de carbono, promovido pelo crescimento de florestas, pode ser transformado em títulos negociáveis entre governos e empresas dos países signatários, entre os quais está o Brasil. O valor atual de 1 tonelada de carbono está em torno de US\$ 10. De acordo com um estudo realizado pelo UNCTAD (UN Conference on Trade and Development), a demanda por créditos de captação de CO₂ durante a próxima década será em torno de US\$ 20 bilhões.

“Seqüestro” significa remover ou por em separado. O seqüestro de CO₂ realizado diretamente pelos oceanos atenta para carbono isolado, realizado pela oxidação de combustíveis fósseis, o qual pode ser afastado da atmosfera através de sua injeção no fundo oceânico ou em águas profundas. Geralmente é aceito que mais de 80% da emissão de CO₂ antropogênico seriam absorvidos naturalmente pelos oceanos, primariamente através de uma troca lenta entre a atmosfera e a superfície da água. Este processo de troca comporta-se como um obstáculo em uma cuba de pia: ocorre também pequena drenagem para prevenir uma grande enchente, ou um grande excesso, nesse caso do CO₂ atmosférico. Para isso, tem sido proposto injetar CO₂ oriundo do sistema de extração de combustíveis fósseis, abaixo do termocline oceânico.

O CO₂ liquefeito poderia ser transportado por um oleoduto para a profundidade dos oceanos, para locais cerca de 1000 m abaixo da superfície. O CO₂ seria ligeiramente dissolvido no interior da água do mar, produzindo inicialmente ácido carbônico e posteriormente íons carbonato e bicarbonato, alterando o pH. A estratificação natural da densidade do oceano impediria o transporte de CO₂ de volta a atmosfera. Preliminarmente, indicativos de modelagem indicam que o prazo de contimento da injeção de CO₂ poderia ser da ordem de séculos. Isso reduziria o valor pico de CO₂ na atmosfera. Estratégias de seqüestro de carbono, firmaram-se sobre a suposição de que, a humanidade não será capaz de passar sem o uso continuado de combustíveis fósseis, relativamente baratos para satisfazer sua necessidade de energia.

2 Microalgas e sua participação no seqüestro de carbono

O planeta Terra possui cerca de 70% de água, sendo que 97% dessa encontra-se nos oceanos. É também nos oceanos que ocorre cerca de 50-60% da fixação do CO₂, além disso, muitas vezes o processo de fixação (fotossíntese) supera o processo de liberação (respiração), fato esse, que ocorre na zona eufótica, e isso se dá graças à presença de uma infinidade de espécies de minúsculos seres fotossintetizantes, chamados de microalgas, formando o fitoplâncton (Falkowski & Raven 1997). As microalgas, segundo Richmond (2004) são responsáveis por aproximadamente 60% do rendimento primário da Terra, todavia é pouco aproveitada em processos comerciais.

O fitoplâncton compõe-se de organismos microscópicos unicelulares que povoam as camadas superficiais (aproximadamente 80 metros) de todos os corpos de água, seja doce ou salgada. Utilizando a luz solar como fonte de energia, esses microrganismos transformam substâncias inorgânicas (CO₂, H₂O e nutrientes), que obtêm do meio, em matéria orgânica necessária a seu crescimento e multiplicação (Arredondo-Vega, 1995). Trata-se de um dos mais importantes processos em curso no planeta, uma vez que, constitui o primeiro elo do complexo sistema alimentar aquático. Todos os animais dos meios aquáticos devem sua subsistência, direta ou indiretamente, à multiplicação celular desses microrganismos (diatomáceas, dinoflagelados, flagelados, cianofíceas, entre outros). Estima-se também, que o rendimento das microalgas aporte a metade da produção primária do planeta (Sournia, 1974; Shelef & Soeder, 1980).

Alga é um termo genérico, desprovido de significado taxonômico, que inclui organismos que possuem clorofila *a* e um talo não diferenciado em raiz, caule ou folhas, com hábito predominantemente aquático. Microalga é um grupo extremamente heterogêneo de organismos. Para ser considerada microalga, o organismo necessita ser muito pequeno, usualmente microscópico, unicelular (mas pode formar colônias com poucas ou sem diferenciação celular), colorido (devido aos pigmentos fotossintéticos e acessórios), ocorrência comum em água (mas não necessariamente) e muito provavelmente sendo fotoautotrófico (mas não necessariamente todo o tempo). Filogeneticamente, as microalgas podem ser procarióticas ou eucarióticas e, em termos evolutivos, recentes ou muito antigas. A grande diversidade de tipos de microalgas, de grupos é uma fonte potencialmente rica de uma vasta gama de produtos químicos, com aplicações em suprimentos alimentares, alimentação humana e animal, cosméticos, farmacêuticos e mesmo na indústria de combustível (Olaizola, 2003).

Biologistas têm categorizado as microalgas em uma variedade de classes, distinguidas principalmente pela sua pigmentação, ciclo de vida e estrutura celular básica. Em termos de abundância, descreveremos quatro classes mais importantes:

i- Diatomáceas (Bacillariophyceae): são as algas dominantes nos oceanos, sendo também encontradas em água salobra e doce. Aproximadamente 100.000 espécies são conhecidas. Possuem paredes celulares impregnadas com sílica polimerizada

(frústulas). Todas as células armazenam carbono, podem ser na forma de óleo natural ou um polímero de carboidratos conhecido como crisolaminarina. Células eucarióticas, forma de vida unicelular cocóide, colônia filamentosa e outras formas. Fazendo parte do complexo coletor de luz possuem a clorofila **a** e **c**, b-caroteno, xantofilas (fucoxantina, diatoxantinas, diadinoxantina), conferindo-lhes uma coloração dourado-amarronzada. Citoplasmas com gotas de óleo. Reprodução por divisão binária ou sexuada com formação de auxósporos (Boney, 1986; Lee, 1995; Falkowski & Raven, 1997; Esteves, 1998; Sheehan *et al.*, 1998; Tomaselli, 2004);

ii- Algas verdes (Chlorophyceae): este grupo é especialmente abundante em água doce. Forma de vida unicelular ou formando colônias, as quais podem ser: colonial flagelada, cenobial, palmelóide, filamentosa (simples ou ramificada). A principal forma de reserva é o amido, porém sob certas condições podem armazenar óleo. Coloração verde, devido aos pigmentos clorofila **a** e **b**, b-caroteno xantofilas (violaxantina, neoxantina, luteína). Parede celular geralmente celulósica, cloroplastos com pirenóides, presença de estigma, um a dois pares de flagelos de tamanhos iguais e inserção apical. A reprodução pode ser por divisão binária, esporos assexuais e reprodução sexual (Boney, 1986; Lee, 1995; Falkowski & Raven, 1997; Esteves, 1998; Sheehan *et al.*, 1998; Tomaselli, 2004).

iii- Algas verde-azuladas (Cyanophyceae): células procarióticas, sendo muito semelhantes em estrutura e organização às bactérias. Forma de vida unicelular, colonial e filamentosa. Apresentam como reserva o amido das cianofíceas, glicogênio e cianoficina. Coloração verde-azulada, verde, violeta, vermelho e castanho, o que se deve a composição de pigmentos que possui: Clorofila **a**, ficocianina, aloficocianina, ficoeritrina, b-caroteno, xantofila. Parede celular contendo peptidoglicano ou mureína mais lipopolissacarídeos (bactérias gram negativo). Apresentam bainha de mucilagem (polissacarídeos hidratados), grânulos de cianoficina, polifosfato e carboxissomos, aerótopos, células especiais (heterocitos = fixação de N_2 e acinetos = esporo perdurante), reprodução por divisão binária, hormogônio (facultativamente móvel) e hormocito (móvel). Estas algas apresentam um papel muito importante na fixação do nitrogênio atmosférico. Aproximadamente 2.000 espécies são conhecidas e encontradas nos mais variados habitats (Boney, 1986; Lee, 1995; Falkowski & Raven, 1997; Esteves, 1998; Sheehan *et al.*, 1998; Tomaselli, 2004).

iv- Algas douradas (Chrysophyceae): este grupo de algas é similar às diatomáceas, principalmente pela pigmentação e composição bioquímica. Elas possuem um sistema de pigmentos mais complexo (clorofila **a** e **c**, b-caroteno, xantofila, dentre elas a fucoxantina), podendo ser de coloração amarela, marrom ou laranja. Células eucarióticas, sendo a maioria dos gêneros unicelulares flagelados (monodal) ou colonial, reservas: óleos naturais e crisolaminarina, várias espécies com envoltório celular (escamas silicosas), geralmente apresentam dois cloroplastos grandes e paretais, flagelos inseridos próximos ao ápice da célula e reprodução por divisão binária ou sexual com

formação de um cisto silicoso. Aproximadamente 1.000 espécies são conhecidas, principalmente em sistemas de água doce (Boney, 1986; Lee, 1995; Falkowski & Raven, 1997; Esteves, 1998; Sheehan *et al.*, 1998; Tomaselli, 2004).

As diferentes formas de vida competem entre si pela captura de luz e dos nutrientes disponíveis na camada superficial marinha. O resultado da competição não depende, apenas, do ritmo de reprodução celular ou da velocidade em assimilar os nutrientes, mas também, das condições ambientais que variam muito conforme a região e a época do ano (Doty, 1959). Nos mares temperados, nos quais as mudanças de estação são muito marcantes, produzindo períodos de rápido crescimento e declínio da população fitoplanctônica. Havendo, no inverno, forte mistura vertical no oceano, ou seja, turbulência (pelo vento), disponibilizando nutrientes, no entanto, a baixa luminosidade limita o crescimento das microalgas. Na primavera, há maior luminosidade, menor incidência de ventos e, com isso, a camada superficial se aquece. Assim, ocorre um crescimento exponencial do número de células fitoplanctônicas (florescimento primaveril), por um dado tempo. Seu declínio também é rápido, pois a diminuição de nutrientes acarreta uma diminuição na divisão celular, a tal ponto que as perdas devido ao afundamento e ao consumo por animais planctônicos não são compensadas. Nesta condição, outro tipo de espécies se desenvolve mais rapidamente havendo uma sucessão de espécies até o outono.

Deve-se considerar também que devido à migração vertical de alguns tipos de fitoplâncton, mesmo que os nutrientes tenham se esgotado durante o dia, permanecem na superfície, assimilando CO₂ e, conseqüentemente, acumulando carboidratos (Sournia, 1974). Entretanto, à noite, o processo contrário ocorre, ou seja, a respiração de todos os tipos de fitoplâncton e a decomposição de alguns deles, havendo consumo de oxigênio dissolvido na coluna d'água e liberação de CO₂ à água e à atmosfera. Esses processos serão acentuados com o aquecimento da superfície oceânica. Hipoteticamente nossos oceanos poderiam seqüestrar, através das algas, cerca de 8 Mt CO₂ ano⁻¹, ou seja, oito megatoneladas de CO₂ por ano (Smetacek *et al.*, 2002; Jones, 2004).

Estudos vêm sendo desenvolvidos, baseados na hipótese de o crescimento das algas ser limitado, em muitas áreas, não pela falta de nutrientes como N e P, mas pela deficiência de ferro. Experimentos realizados por Martin *et al.* (1991a e b) mostraram que quando o ferro é adicionado a amostras de águas tiradas de regiões ricas em nutrientes, a atividade biológica aumentava cerca de dez vezes. Baseados neste resultado sugeriram a possibilidade de reação ao aquecimento global, adicionando ferro a regiões oceânicas ricas em nutrientes, mas com baixa atividade biológica. Propondo que o aumento da produção algal fixaria mais CO₂ da atmosfera, da mesma forma que o plantio de árvores.

O histórico sobre utilização de populações naturais de microalgas consta de séculos passados (*Nostoc* na Ásia e *Spirulina* na África e México). Entretanto, o propósito satisfatório de cultivo de microalgas foi saciado somente há poucas décadas.

Durante o século 20, pesquisadores e produtores comerciais desenvolveram várias tecnologias de cultivo de microalgas: reservatórios e tanques abertos, fotobiorreatores e reatores fermentativos. Microalga ainda não é um grupo bem estudado do ponto de vista biotecnológico. Das dezenas de milhares de espécies de microalgas que se acredita existirem, somente alguns milhares têm sido mantidas em coleções pelo mundo, poucas centenas têm sido investigadas quanto a sua composição bioquímica e somente algumas espécies têm sido cultivadas comercialmente, ou seja, produzidas em larga escala (Olaizola, 2003).

O conceito de biotecnologia algal é basicamente o mesmo da agricultura convencional, isto é, a utilização da máquina fotossintética para a produção de biomassa seca para ser utilizada como uma fonte de alimento, suplementação alimentar, químicos e energia (Derner, 1995). As principais vantagens do cultivo de microalgas com propósitos econômicos são:

i- As algas são consideradas por ser um sistema biológico muito eficiente no armazenamento de energia solar através da produção de compostos orgânicos via processo fotossintético. Muitas espécies de microalgas crescem mais rápido que as plantas terrestres, sendo possível obterem maiores rendimentos anuais de biomassa seca;

ii- Como são organismos unicelulares (“single-cell”) toda sua biomassa seca apresenta a mesma composição bioquímica, contrastando com as plantas terrestres, as quais apresentam composição diferenciada para cada órgão;

iii- Muitas espécies podem ser induzidas a produzir altas concentrações de determinados compostos comercialmente valorizados, tais como: proteínas, carboidratos, lipídios, esteróis, pigmentos, ácidos graxos, vitaminas, biopolímeros, entre outros;

iv- Microalgas são microrganismos que sofrem ciclos de divisões celulares simples, na maioria dos casos sem um estágio sexual típico, possibilitando um ciclo completo em poucas horas, tornando a melhoria e a seleção genética relativamente rápidas e fáceis;

v- As microalgas podem crescer em regiões de baixa produtividade, devido à pobreza do solo, deficiência de água doce e/ou condições climáticas extremas, por adaptarem-se a ambientes salobros ou marinhos, o que não acontece com as plantas convencionalmente cultivadas; e

vi- Sistemas de produção de biomassa seca algal podem facilmente ser adaptados para vários níveis operacionais ou práticas tecnológicas, passando de simples para unidades de produção intensiva e destas para sistemas totalmente automatizados, requerendo, no entanto, altos investimentos (Cohen, 1986; Vonshak, 1990; Richmond, 1990; Borowitzka, 1994; Molina *et al.*, 1995).

As microalgas apresentam alto potencial de utilidades para a humanidade, dentre eles encontram-se: i) como alimento para animais aquáticos, ii) como fonte de

proteínas unicelulares SPC (“single cell protein”); iii) como fonte de pigmentos (principalmente ficocianinas e b- caroteno); iv) tratamento de águas residuais, ou seja, efluentes industriais (Shelef & Soeder, 1980; Soeder, 1986).

Um grande número de espécies, de diversos grupos taxonômicos, é empregado para a alimentação de animais aquáticos (Derner, 1995). Para este fim, o conhecimento da composição química das espécies é muito importante, tendo em vista o valor nutricional. Já com finalidade de produzir proteínas, ha menor número de espécies, tais como representantes dos gêneros *Spirulina*, *Scenedesmus*, *Chlorella* e *Dunaliella*. No entanto, a produção comercial de microalgas tem sido realizada somente por grandes empresas, devido ao alto investimento inicial, exigência de elevado conhecimento do assunto, requerimento de grande investimento em equipamentos visando obtenção da matéria-prima, além do mercado ser competitivo (Borowitzka, 1994).

Por exemplo, o cultivo de *Spirulina*, destina-se principalmente à indústria de cosméticos, para processamento e aproveitamento do conteúdo de ficocianina, e à indústria farmacêutica. Utilização da biomassa seca como concentrado de proteína destina-se para consumo humano e também animal como suplementação protéica (Durand-Chastel, 1993).

O gênero *Dunaliella* tem sido produzido visando à extração de β -caroteno, o qual pode alcançar 14% de sua massa seca (Borowitzka, 1994). As diversas espécies desse gênero obtêm ótimas condições de crescimento em ambientes de elevadíssimas salinidades, até superiores a 22% (p/v) e em altas temperaturas (Borowitzka, 1994). Estas características têm determinado o sucesso destes cultivos em áreas desérticas quentes, como em Israel e na Austrália (Borowitzka, 1992). As microalgas apresentam composição bioquímica variável (proteínas, ácidos graxos, carboidratos, pigmentos, entre outros). A concentração de cada componente é também variável em função da natureza do organismo, da influência das condições empregadas no cultivo e do próprio estado fisiológico da cultura, o que possibilita a obtenção de diferentes composições químicas para uma mesma espécie em função da manipulação de alguns fatores (Miao & Wu, 2004).

As metodologias utilizadas para a determinação da composição bioquímica de microalgas são dificultadas quando executadas com amostras de cultivos laboratoriais, uma vez que a quantidade de biomassa seca produzida é muito pequena, geralmente poucos miligramas. Todavia, o alto rendimento e rápido crescimento de várias espécies de microalgas têm acelerado ainda mais o interesse da pesquisa.

Pesquisas sobre a composição bioquímica de microalgas são relativamente recentes, tendo sido iniciadas na década de 1950. As especificidades da natureza destes estudos produziram dificuldades analíticas, e estas somente puderam ser superadas com o desenvolvimento e adaptações de metodologias de determinação de substâncias que fossem sensíveis o suficiente para serem executadas com amostras de tamanho

reduzido, tais quais as obtidas em cultivos laboratoriais de microalgas. O acúmulo de dados desde então, tem permitido conhecer os padrões de composição bioquímica de diversas espécies e mesmo de grupos taxonômicos. A interpretação desses dados, entretanto, deve ser efetuada com algumas ressalvas, uma vez que, a maioria dos trabalhos apresenta descrições das substâncias celulares presentes nas espécies, determinadas em um único momento, situação que pode conduzir a generalizações errôneas acerca da composição bioquímica das microalgas (Fábregas *et al.*, 1985; Fernández-Reiriz *et al.*, 1989). Além disso, as condições experimentais são freqüentemente muito distintas, introduzindo diversas variáveis que dificultam a comparação dos resultados. Sendo então, necessário interpretar as informações não simplesmente como valores absolutos referentes à natureza da espécie, mas também como uma resposta relativa, por exemplo, ao sistema de cultivo empregado, ao estado fisiológico da cultura e à fase de crescimento examinada (Fernández-Reiriz *et al.*, 1989).

Segundo Derner (1995), o crescimento de uma população de algas é determinado por uma interação entre os fatores biológicos, físicos e químicos. Os fatores biológicos estão relacionados com as taxas metabólicas da espécie cultivada e/ou devido à influência de outros microrganismos no crescimento algal. O crescimento algal está relacionado diretamente aos fatores físicos, tais como a luz e temperatura. A luz é de fundamental importância para as algas, pois a maioria das espécies são fotoautotróficas, isto é, retiram a sua energia da luz e utilizam o carbono necessário para a construção de sua biomassa, através da fotossíntese (Derner, 1995).

O incremento da população algal está diretamente relacionado com o fotoperíodo, qualidade e intensidade de luz, sendo estas características dependentes do ambiente de cultivo. Na maioria dos laboratórios, o cultivo de microalgas é realizado em ambientes abertos sob condições naturais de luz e temperatura. Neste sistema, existem muitas variações na intensidade luminosa e na temperatura o que reflete no crescimento alga. A temperatura tem o seu principal efeito sobre processos enzimáticos. A maioria das espécies de algas sobrevive numa ampla faixa térmica, sendo que a faixa ótima de crescimento algal pode variar entre as espécies, porém, só há incremento na síntese orgânica em determinada faixa térmica, a qual é considerada a faixa ótima de crescimento para o crescimento daquela espécie algal (Derner, 1995).

Para as microalgas apresentarem crescimento ótimo, necessitam de uma série de nutrientes, utilizados em quantidades que variam com a espécie cultivada. Por sua vez, os meios de culturas, necessitam de macronutrientes (C, N, O, H, Ca, Mg, S e K) e micronutrientes (Mn, Mo, Fe, Cu, Zn). Além disso, algumas espécies de microalgas necessitam também da adição de vitaminas ao meio de cultura, como por exemplo biotina, tiamina, cianocobalamina (Borowitzka & Borowitzka, 1988; Derner, 1995). Percebe-se e é sabido que as necessidades de certas microalgas são bem específicas, por exemplo, a inclusão de sílica ao cultivo de diatomáceas é indispensável, pois quando

esse elemento (assimilado na forma de ácido silícico) está ausente ou esgotado no meio, reduz ou até mesmo inibe o crescimento.

Os nutrientes mais utilizados ou absorvidos pelas microalgas são o nitrogênio e o fósforo. Esses nutrientes geralmente são empregados em meios de cultura simples, elaborados com fertilizantes agrícolas (uréia, superfosfato triplo, sulfato de amônio, etc.), os quais são de baixo custo, ou ainda em meios complexos (F/2 Guillard (1975), Conay, etc.) diluídos (Derner, 1995). Mudanças nas fontes de nutrientes geralmente não afetam a taxa de crescimento de microalgas, no entanto, é afetada pela alteração na concentração dos nutrientes (Herrero *et al.*, 1991; Valenzuela- Espinoza *et al.*, 2002). Outros fatores químicos que influenciam o crescimento das microalga são a salinidade e o pH (Richmond, 1990; Richmond, 2004). O crescimento das culturas pode ser influenciado também pelo tamanho e forma dos tanques, tamanhos das células, aeração etc. (Borowitzka & Borowitzka, 1988; Richmond, 1990; Kurano *et al.*, 1995).

As diatomáceas são um dos grupos de fitoplâncton oceânico que possuem um requerimento essencial de ácido silícico para a formação da sua carapaça. Na água do mar o ácido silícico está presente em três formas químicas (H_4SiO_4 , $H_3SiO_4^-$ e $H_2SiO_4^{2-}$). O ácido silícico molecular realmente absorvido pelas diatomáceas é ainda alvo de discussões. Células algais são circundadas por uma camada limite difusa (DBL), contendo uma espessura efetiva da ordem do raio celular. O transporte de nutrientes através dessas camadas ocorre somente por difusão e assim pode limitar o suprimento de ácido silícico para a célula. Conforme a forma de ácido silícico absorvido pela célula, o sistema químico DBL será desequilibrado (Richmond, 1990).

O carbono é considerado o macronutriente mais importante nos cultivos de microalgas, o que se deve ao fato de constituir em média 50% da biomassa seca microalgal. Com isso, o crescimento pode ser incrementado pela adição, de fontes orgânicas como inorgânicas de carbono (Borowitzka & Borowitzka, 1988). O teor de carbono na massa seca das algas verdes *Chlorella pyrenoidosa* e *Scenedesmus* sp., segundo Krauss (1995) *apud* Oh-Hama & Miyachi (1998) foi de 51,4 e 72,6%, respectivamente.

Como fontes inorgânicas são utilizadas o dióxido de carbono e o bicarbonato. O CO_2 é absorvido por difusão, ou seja, sem gasto de energia, já o bicarbonato é absorvido ativamente, consumindo energia, ATP (Raven, 1988; Williams *et al.*, 2002). Por essa razão, o CO_2 é preferencialmente utilizado nos tanques de cultivo de microalgas, quando se busca incrementar a produção, sendo, porém misturado com ar e, então injetado nos cultivos. Pode-se, no entanto, utilizar fontes orgânicas de carbono, tais como glicose, acetato, lactato, aminoácidos e outros para o crescimento de microalgas (Richmond, 1990; Miao & Wu, 2004).

Os cultivos são classificados em função da fonte de carbono e utilização ou não de luminosidade em: i- Cultivo Autotrófico: quando se emprega iluminação e CO_2 , tanto o proveniente do ar atmosférico, como o injetado na cultura proveniente de

cilindros pressurizados; ii- Cultivo heterotrófico: emprego de uma fonte orgânica de carbono e sem iluminação; e iii- Cultivo Mixotrófico: emprego simultâneo de uma fonte de carbono orgânico e uma fonte luminosa, como também, a combinação de CO₂ e substrato orgânico como fontes de carbono.

O rendimento de microalgas foi determinado para as espécies: *Phaeodactylum tricornutum*, *Dunaliella primolecta*, *Monallanthus salina*, *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis* sp., *Botryococcus braunii*, as quais apresentaram os seguintes valores máximos: 22,0; 12,0; 13,9; 19,1; 11,5 e 3,4 g MS m⁻² d⁻¹ (gramas de massa seca por metro quadrado por dia), respectivamente (Thomas *et al.*, 1983). Em outro teste, encontraram para a espécie *Nitzschia* sp. 8,8 g MS m⁻² d⁻¹ e 45,8 g MS m⁻² d⁻¹ para *Oocystis pusilla*, quando cultivadas com uréia como fonte de nitrogênio (Thomas *et al.*, 1983). As espécies *Chlorella* sp. e *Nannochloris* sp. apresentaram, respectivamente, 55,5 g MS m⁻² d⁻¹ e 31,5 g MS m⁻² d⁻¹, com temperatura ótima variando de 25 a 35° C (Thomas *et al.*, 1984). Se tomarmos como base o teor de carbono citado por Krauss (1995) *apud* Oh-Hama & Miyachi (1998) para *Chlorella pyrenoidosa*, o qual foi de 51,4%, teremos teoricamente 55,5 g MS m⁻² d⁻¹ e 28,53 g C m⁻² d⁻¹. Fazendo uma estimativa para um ano teríamos: 200,75 t MS ha⁻¹ a⁻¹ e 104,14 t C ha⁻¹ a⁻¹, dados esses, muito superiores aos encontrados por Goldman (1979), os quais constaram variações entre 15 e 25 t MS ha⁻¹ a⁻¹ por um período relativamente longo em algumas microalgas bem conhecidas como produtoras de ácidos graxos e hidrocarbonos.

López-Elías *et al.* (2005) obtiveram rendimento diário de biomassa seca para *Chaetoceros muelleri*, cultivada em sistema estacionário protegido durante o verão-outono, de 26,1 g m⁻³ d⁻¹ e de 43,7 g m⁻³ d⁻¹ durante o inverno-primavera, valores estes inferiores ao valor estimado para esta espécie.

Rodolfi *et al.* (2003) obtiveram rendimento de biomassa seca para *Nannochloropsis* cultivada em reator, variando de 1,88 a 4,8 g L⁻¹, quando testando quatro meios de crescimento durante 28 dias. Já o rendimento de biomassa seca em uma semana foi em torno de 1 g L⁻¹, valor este, superior ao encontrado neste estudo para o mesmo período, porém não muito discrepante, uma vez que o valor encontrado foi de 0,828 g L⁻¹ e das diferentes condições de cultivo. Todavia, Rocha *et al.* (2003), encontraram para esse parâmetro 0,38 g L⁻¹, valor este inferior aos acima referidos.

O rendimento de *Chlorella* sp. encontrado por Iwamoto (2004) foi de 48 g l⁻¹ d⁻¹ quando da avaliação de reservatórios de 10m³ durante 48 h. Em sistema fechado e contínuo, Cohen *et al.*, (1991) encontraram valores de rendimento diário de massa seca e polissacarídeos de 17,7 e 7,4 g m⁻², respectivamente. Já, em tanques abertos, esses valores foram de 7,6 e 2,4 g m⁻² para a espécie *Porphyridium* sp.. No caso de tanques abertos, pode-se estimar uma produção de 27,74 t MS ha⁻¹ a⁻¹, considerando que em média 50% da massa seca é carbôno, ter-se-ia 13,87 t C ha⁻¹ a⁻¹. Michiki (1995) concluiu que o fotobiorreator é uma das partes mais importantes do sistema de cultivo, alcançando nesse sistema alta produtividade, que neste estudo foi de 1,0 g C m⁻² d⁻¹, correspondendo a 3,65 t C ha⁻¹ a⁻¹, valor esse inferior aos acima mencionados.

Segundo Hughes & Benemann (1997), a fotossíntese algal é aumentada de 1-3 g C m⁻² d⁻¹ em sistemas convencionais de tanques abertos, e de 10-12 g C m⁻² d⁻¹ em sistema aquícolas isolados e cobertos, o que corresponde a 3,65-10,95 t C ha⁻¹ a⁻¹ e 36,5-43,8 t C ha⁻¹ a⁻¹, respectivamente.

Cultivos realizados em fotobiorreatores conjuntos do tipo serpentina, feitos de tubos de polietileno transparente, com diâmetro de 41 cm e capacidade para 25.000 litros, ocupando uma área de 100 m², apresentaram produtividade de 250 g MS L⁻¹, ou seja, 6,25 t MS em um hectare ou em 25.000 litros de cultivo (Olaizola, 2003).

Cultivos de diatomáceas em tanques abertos de 1000 m² apresentaram alta transferência de CO₂ e total eficiência de utilização. Em tanques de pequena escala, o rendimento máximo foi de 30g MS m⁻² d⁻¹. Já para tanques grandes, o rendimento máximo foi de 20 g MS m⁻² d⁻¹ no verão. O custo de produção foi de US\$ 250 por tonelada de massa seca, incluindo a coleta, armazenamento, infra-estrutura e processamento da biomassa seca para combustível (Weissman & Goebel, 1987). Para um rendimento de 30 g MS m⁻² d⁻¹, temos a estimativa de 10,95 kg MS m⁻² a⁻¹, ou melhor, 109,50 t MS ha⁻¹ a⁻¹, cujo custo por hectare ficaria em US\$ 27.375,00. O Estado do Rio Grande do Sul produz em média 3 t ha⁻¹ de soja e 9 t ha⁻¹ de milho, quando de uma boa safra, os quais se encontram muito abaixo dos acima citados para diatomáceas, no entanto, o custo de produção é muito menor.

Em um trabalho realizado por Weissman & Tillet (1992) em tanques abertos de 1.000 m², utilizando a espécie *Tetraselmis suecica*, com fornecimento de CO₂, mostrou que a velocidade de agitação da cultura deve variar de 15-25 cm S⁻¹ e que, a profundidade do tanque deve ser de 15-25 cm para se obter um rendimento de 70 t MS ha⁻¹ a⁻¹, fixando 35 t C ha⁻¹ a⁻¹, considerando que em média 50% da massa seca é carbono. No entanto, o rendimento de massa seca varia durante o ano em função da flutuação da temperatura, apresentando rendimento médio de 7 g m⁻² d⁻¹ de março a maio, 18 g m⁻² d⁻¹ de junho a outubro, 5-10 g m⁻² d⁻¹ em novembro e somente 3 g m⁻² d⁻¹ nos meses de inverno.

Embora as plantas superiores tenham um papel muito importante no ciclo de carbono, microalgas aquáticas são reconhecidas por fixarem CO₂ biocataliticamente. Características como eficiência fotossintética superior às plantas C₄, taxas de proliferação rápida, grande variedade de tolerância a ambientes extremos e a sua capacidade de cultivos intensivos, prometem serem eficazes na redução do CO₂ atmosférico (Kurano *et al.*, 1995; Parry *et al.*, 1998; Ramanathan, 1998; Rodhe *et al.*, 1998).

Masakazu & Ikenouchi (1997) realizando um estudo visando selecionar espécies de microalgas com alto potencial de fixação de carbono encontraram como valor médio 1 g CO₂ L⁻¹ d⁻¹ com 24 horas de iluminação, sendo que a espécie *Chlorococcum littorale* excedeu este valor. Descobriram também que a espécie *Botryococcus braunii* produz mais de 15% de hidrocarbono em sua massa seca, podendo

ser utilizada com biocombustível renovável. Kurano *et al.* (1995) buscando selecionar espécies com alta capacidade de fixação de dióxido de carbono encontraram em uma alga verde marinha recém identificada, *Chlorococcum littorale*, a maior taxa de fixação de CO₂, a qual foi de 4 g C L⁻¹ d⁻¹ em um volume de meio de 10 mL, já num volume de 4 litros o teor médio foi de 0,65 g C L⁻¹ d⁻¹ e em 20 litros 0,85 g C L⁻¹ d⁻¹.

Gudin *et al.* (1984) estimaram que a produção de biomassa seca de *Porphyridium* sp., a qual variou de 42 a 76 toneladas ha⁻¹ ano⁻¹. Valor semelhante foi encontrado por Vonshak *et al.*, (1985) para a mesma espécie, o qual foi de 15 g m⁻² d⁻¹, ou seja, cerca de 54 t ha⁻¹ a⁻¹ de biomassa seca e 27 t C ha⁻¹ a⁻¹.

Dos organismos fotossintetizantes, as microalgas são muito mais eficientes no uso do CO₂ que as plantas superiores, podendo fixar quantidades muito maiores de CO₂ por área de terra. Assim, máximas produtividades de plantas superiores e árvores estão restritas a áreas com solo, água e clima favoráveis (principalmente nos trópicos). As exposições das folhas das plantas superiores à atmosfera estão submetidas às variações da demanda evaporativa, o que pode inibir o processo fotossintético e, com isso, a absorção de CO₂. Microalgas em cultivo massal não se encontram sujeitas à inibição fotossintética, uma vez que o conteúdo de água pode ser controlado pela própria engenharia, podendo-se utilizar água salina se necessário. Esta diferença é a base para explicar a superioridade das microalgas quanto à capacidade de absorção de CO₂ quando comparadas a plantas superiores, tais como árvores e cana-de-açúcar (Brown & Zeiler, 1993).

Aplicações iniciais de cultivos intensivos de microalgas foram testadas no Sudoeste desértico dos Estados Unidos. Esta área recebe alta radiação solar, baixa precipitação pluviométrica, oferecendo poucos usos, apresentando, por esta razão, baixo custo. Existindo também na região, vários aquíferos salinos, o que poderia prover sustentabilidade, reduzindo o custo de meio de cultura para o crescimento de muitas espécies de microalgas (Brown & Zeiler, 1993).

Técnicas de coleta dependerão do tamanho e densidade microalgal, incluindo floculação, filtração, centrifugação e flotação com uso de ar. Revisões sobre as diferentes técnicas disponíveis têm concluído que a centrifugação é possivelmente a técnica mais confiável e com custo levemente mais alto que as outras técnicas (Molina *et al.*, 2003).

A tentativa futura de reduzir a produção de gasolina, devido à necessidade de minimização das emissões antropogênicas de CO₂, requer o desenvolvimento de um substituto, uma fonte renovável de combustível diesel. O biodiesel é um candidato altamente atrativo para cumprir essa necessidade, além de ser um combustível mais limpo que o derivado do petróleo. Ele é virtualmente livre de enxofre, eliminando, desse modo, a produção de óxido de enxofre durante a combustão. Emissões de hidrocarbonos, monóxido de carbono e partículas durante a combustão são também significativamente reduzidas quando comparadas ao diesel de petróleo. Além de ser um combustível biodegradável, apresenta ainda, o benefício de poder ser utilizado em

motores não modificados. O biodiesel é ordinariamente considerado ser derivado de sementes oleaginosas, no entanto, atualmente reconhece-se que pode ser feito de biomassa seca microalgal (Brown & Zeiler, 1993).

Apesar do cultivo de microalgas apresentar dados de produtividade animadores, o custo de produção das mesmas é muito alto, por exemplo, para produzir um quilograma de massa seca de *Chlorella* sp. o valor varia de US\$ 10-15. Já para, *Spirulina* sp. o valor varia de US\$ 6-12 (Vonshak, 1990). Custo de US\$ 10 por tonelada de biomassa seca foi encontrado também por Olaizola (2003).

No entanto, deve-se buscar o desenvolvimento de práticas e aplicações que incluam: i- seleção e melhoramento de raças de microalgas capazes de serem cultivadas massalmente em tanques abertos; ii- maximização do rendimento das microalgas quando do cultivo sob luz solar; iii- otimização da produção de componentes carbonados na biomassa seca algal; iv- desenvolvimento de cultivos em larga escala e de baixo custo (custo da terra, água, infra-estrutura...); v- desenvolvimento de tecnologias de coleta microalgal de baixo custo; vi- cultivos com utilização de produtos fertilizantes comerciais, espécies pouco exigentes em nutrição e de fácil adaptação; vii- melhoramento dos processos de conversão da biomassa seca microalgal em produtos manufaturados, assim como o combustível; e viii- demonstrações práticas em tratamentos de efluentes (biorremediação), aquíicultura e outros.

3 Florestas e sua participação no seqüestro de carbono

A preocupação com o aquecimento global tem aumentado muito nos últimos anos. Embora o aumento da temperatura média nesta última década pudesse ser explicado apenas pela variabilidade natural no sistema climático da Terra, existe uma convergência de evidências, que aumentam muito a probabilidade do aumento da emissão de gases efeito estufa ser o principal responsável pelo aquecimento. Dentre estas evidências pode-se mencionar o derretimento de geleiras, o aquecimento da litosfera, o aquecimento da baixa troposfera e o aumento na temperatura da superfície dos oceanos (IPCC, 1996). É esta intensificação do efeito estufa, e não o efeito estufa propriamente, que é motivo de preocupação. A intensificação do efeito estufa é promovida pela acumulação anormal de gases na atmosfera, como o CO₂, o CH₄, o N₂O, entre outros, que permitem a entrada da energia da luz solar, porém, restringem a saída da correspondente energia emitida pela Terra para o espaço. Todos estes gases são produzidos e consumidos em uma variedade de processos biogeoquímicos naturais no sistema terrestre. Contudo, o carbono proveniente da queima de combustíveis fósseis e da destruição de florestas, está sendo liberado na atmosfera em um ritmo sem precedentes na história geológica do planeta.

O carbono emitido pelas fontes bióticas e pelo uso da energia é parcialmente absorvido nos sumidouros naturais (biomassa seca terrestre e oceânica), ficando o restante na atmosfera. Contabilizando-se a quantidade conhecida de carbono que entra na atmosfera proveniente de atividade antrópica, e os sumidouros conhecidos, como os oceanos, a conta não fecha, restando o que se convencionou chamar de sumidouro faltante de carbono.

Devido a sua grande extensão, as florestas tropicais úmidas têm um papel importante no ciclo global do carbono. Elas contêm algo ao redor de 40% do carbono estocado na biomassa seca terrestre, e são responsáveis por 30 a 50% de todo o rendimento terrestre (Philips *et al.*, 1998). A teoria ecológica clássica sempre teve a floresta tropical climax como exemplo de ecossistema, no qual, a produção primária pela fotossíntese é balanceada pela respiração e, conseqüentemente, a produção líquida do ecossistema (NEP) é próxima de zero. Em contraste a esta visão, descobertas recentes provenientes da avaliação de mudanças nos estoques de biomassa seca (Philips *et al.*, 1998), ou de medições diretas da troca líquida total do ecossistema (Grace *et al.*, 1995; Malhi *et al.*, 1998), apontaram o importante papel das florestas tropicais como um sumidouro significativo de carbono ($0,62 \pm 0,37 \text{ t C ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ até $5,9 \text{ t C ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$, respectivamente). Se extrapolarmos o menor valor ($0,62 \text{ t C ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$), estas florestas podem ser responsáveis por aproximadamente 40% do que falta na contabilidade dos sumidouros terrestres. Contudo, os estudos que medem diretamente as trocas de carbono entre o ecossistema e a atmosfera têm ignorado o destino do carbono seqüestrado pela floresta. Uma parte deste carbono extra é incorporada ao estoque de biomassa seca do ecossistema, como demonstram as medidas biométricas em variados sítios pela Amazônia (Philips *et al.*, 1998). O carbono que não é acumulado como biomassa seca, normalmente retorna à atmosfera como CO_2 , CH_4 ou moléculas orgânicas maiores de compostos voláteis emitidos pelas plantas (Guenther *et al.*, 1993). O carbono pode ainda estar sendo acumulado no sistema como fração refratária da matéria orgânica do solo, ou pode mesmo estar deixando o sistema na forma dissolvida nas águas de drenagem, ou ainda na forma particulada, através dos processos erosivos.

Trabalhos têm sido realizados, utilizando-se estimativas de volume e biomassa seca em diferentes partes das árvores e em compartimentos das florestas, as quais são convertidas em quantidades de carbono pela utilização de fatores de conversão, ou seja, a quantidade de carbono estocada nas florestas normalmente é obtida de forma indireta (Cooper, 1983; Brown & Lugo, 1984; Brown *et al.*, 1986), principalmente devido ao custo elevado para obtenção da quantidade de carbono presente em diferentes compartimentos da floresta.

A dinâmica do carbono em uma floresta é determinada pela assimilação de CO₂ através fotossíntese total; pela liberação de carbono através da respiração das plantas autotróficas; pela transferência de carbono do solo na forma de palha de folhas, madeira e raízes e exsudatos de compostos orgânicos na rizosfera e pela eventual liberação de carbono do solo de volta à atmosfera através da decomposição e respiração de micróbios e outros seres heterotróficos. Malhi *et al.*, (1999) estimaram que o tempo médio de residência do carbono é de 16 anos na biomassa seca e 13 anos no solo, totalizando 29 anos, existindo uma transferência líquida de CO₂ para a biomassa seca numa taxa de 15,6 t C ha⁻¹ a⁻¹. Este carbono permanece na biomassa seca por 16 anos, tempo médio de residência, quando então é transferido para o solo, no qual permanece por mais 13 anos, quando então retoma a atmosfera. Valor esse, que excedeu os valores usuais de produção primária líquida (6-14 t C ha⁻¹ a⁻¹), derivados de estudos alométricos (Medina & Klinge, 1983).

Todavia, estes dados estão sendo amplamente contestados, uma vez que, o rendimento líquido estimado e citado na literatura atual é mais baixo por desconsiderar as modificações radiculares e os exsudatos (Malhi & Grace, 2000). Estes autores estimaram como provável taxa de seqüestro 1,1 t C ha⁻¹ a⁻¹ em um bioma tropical. Um pequeno estudo realizado na Amazônia Central em 1987 sugeriu que a taxa de seqüestro anual fosse de 2,2 t C ha⁻¹ a⁻¹ (Fan *et al.*, 1990); estudo realizado ao sul Amazônico em 1993 apresentou o seqüestro de 1,0 t C ha⁻¹ a⁻¹ (Grace *et al.*, 1995) e num estudo mais amplo, realizado em 1995-1996 calculou-se como carbono líquido seqüestrado de 5,9 t C ha⁻¹ a⁻¹ (Malhi *et al.*, 1998).

Drewitt *et al.* (2002) mediram as trocas de CO₂ sobre chão da floresta temperada costeira de Douglas-fir, localizada próxima ao Rio Campbell, British Columbia, Canadá, entre abril e dezembro de 2000. Obtiveram como média de troca líquida para as seis medições efetuadas o valor de 1920 ± 530 g C m⁻² a⁻¹, o que corresponde em média a 19,2 ± 5,3 t C ha⁻¹ a⁻¹.

Baseados na alteração da biomassa seca da vegetação, através da diferença de absorção e emissão de CO₂, Lasco *et al.* (2002) calcularam a taxa de seqüestro de carbono para plantações de coco (10,09 t C ha⁻¹ a⁻¹), a qual foi maior que na área arbustiva (4,29 t C ha⁻¹ a⁻¹) e está maior que em floresta natural (0,92 t C ha⁻¹ a⁻¹).

Em um estudo de reconstrução do histórico de crescimento de três árvores Mund *et al.* (2002) obtiveram como produtividade primária líquida valores variando entre 6 a 13 t C ha⁻¹ a⁻¹ Berbigier *et al.* (2001) avaliaram plantações de pinheiro de marinheiro (*Pinus pinaster* Ait.), para os quais encontraram um valor estimado de seqüestro de carbono para o segundo ano de 11,5 ± 0,8 t C ha⁻¹ a⁻¹.

Comparando estimativas de seqüestro de carbono entre o meio urbano, duas florestas e duas plantações de linho, Pervaiz & Sain (2003) obtiveram para o meio

urbano um seqüestro de aproximadamente $0,7 \text{ t C ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$; na floresta I (reserva de pinheiro há 25 anos em regeneração natural) cerca de $1,0 \text{ t C ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$; para a floresta II (plantação de *pinus* geneticamente modificado para alta produtividade, com menos de 25 anos), aproximadamente $2,5 \text{ t C ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$; plantação de linho I, avaliando a biomassa seca total o seqüestro de carbono foi em torno de $2,7 \text{ t C ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$. Contudo, parte do carbono armazenado na biomassa seca retorna a atmosfera como CO_2 , devido   biodegrada o das folhas, raízes e de alguns produtos menos duráveis, utilizados para fazer canteiros para animais; e planta o de linho II, a qual seqüestrou $0,67 \text{ t C ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$, porém neste caso armazena o carbono por longo tempo, uma vez que, sua fibra   utilizada para a produ o de produtos duráveis, tais como tecidos, cordas, cordões e especialidades em papel.

Soares & Oliveira (2002) avaliando a cultura do *Eucalyptus grandis* W. Hill ex-Maiden aos 77 meses de idade, constataram que o fuste sem casca representa a fra o da parte  erea da árvore com maior quantidade de carbono (83,24%), seguido dos galhos (6,87%), da casca (6,62%) e das folhas (2,48%).

Assim, uma floresta que seqüestra carbono está efetivamente “crescendo” em biomassa seca e/ou acumulando carbono no solo. A teoria ecológica e o bom senso predizem que em um espaço finito não pode ocorrer crescimento indefinidamente. Para fixar carbono as plantas requerem disponibilidade de outros recursos, como água e nutrientes. Para florestas tropicais, o papel da água e dos nutrientes quanto   capacidade de seqüestrar carbono ainda   pouco conhecido e bastante controverso, especialmente quando se consideram os efeitos potenciais de mudança do clima, incluindo o impacto dos eventos de El-Ni o. (Hodnett *et al.*, 1997; Williams *et al.*, 1998; Kattenberget *et al.*, 1996; Irvine *et al.*, 1998; Cox *et al.*, 2000; Bousquet *et al.*, 2000).

A  gua exerce um papel fundamental em todos os processos fisiológicos das plantas, seja na transferência de nutrientes entre vários compartimentos, seja na regula o da abertura e fechamento de estômatos nas folhas, o que afeta diretamente as trocas gasosas com a atmosfera e, conseqüentemente, a capacidade de absor o de CO_2 . O magnésio   parte central na molécula clorofila; o nitrogênio   componente essencial da enzima Rubisco (a enzima responsável pela assimila o de carbono da atmosfera e conversão em matéria orgânica na folha); Fósforo também   necessário para o DNA e para a fosforila o de ADP no armazenamento e libera o de energia metabólica. E estas moléculas são apenas quatro na miríade de moléculas orgânicas envolvidas na fotossíntese. Portanto, os nutrientes são peças fundamentais da maquina ria bioquímica dentro das folhas, no processo que transforma dióxido de carbono em açúcar. Assim, na essência do processo de fixa o de carbono existe a necessidade de elementos minerais não removíveis do ar. A compreensão dos mecanismos de transferência, disponibilidade e consumo da água, como também dos nutrientes que

afetam a capacidade de crescimento das plantas é essencial para se explicar um aumento continuado de biomassa seca, como observado nas florestas de terra-firme amazônicas.

Se compararmos os resultados apresentados na literatura para seqüestro de carbono através do rendimento primário líquido de microalgas e florestas, iremos perceber que existe uma grande variação quanto aos valores citados, tanto para microalgas como para florestas. O que se deve a vários fatores, tais como: diferenças climáticas, diferenças no manejo, no cultivo, na coleta dos dados e muitos outros. Contudo, podemos perceber que o rendimento das microalgas por área, mantendo o mesmo período é predominantemente maior que em florestas e cultivos agrícolas. Para florestas, entre os valores acima citados houve uma variação de 0,62 a 24,5 t C ha⁻¹ a⁻¹. Sabendo-se que o valor do crédito de carbono é de US\$ 10 t C⁻¹, obtém-se um ganho de US\$ 0,62 a 245 ha⁻¹ a⁻¹. Já para microalgas o seqüestro de carbono variou de 3,65 a 104,74 t C ha⁻¹ a⁻¹, correspondendo a um ganho de US\$ 36,5 a 1.047,40 ha⁻¹ a⁻¹.

4 Produção de lipídios pelas microalgas

A produção de biomassa seca vem sendo focada como uma fonte alternativa de energia, uma vez que é um recurso renovável e fixa CO₂ atmosférico através da fotossíntese. Se a biomassa seca é produzida de forma sustentável, sua combustão não terá impacto sobre o balanço de CO₂ na atmosfera, porque o CO₂ emitido pela queima da sua biomassa seca é compensado pelo CO₂ fixado pela fotossíntese. Conseqüentemente, substituindo os combustíveis fósseis por biomassa seca pode contribuir para a mitigação do aquecimento global pela redução da emissão de CO₂ oriundos da queima de combustíveis fósseis (Hall *et al.*, 1991; Macedo, 1992; Benemann, 1993; Hall & House, 1993; Hughes & Benemann, 1997).

A primeira suposição para se produzir um biodiesel através da biomassa seca microalgal, fundamenta-se na possibilidade de converter eficientemente a energia solar superando o efeito de saturação da luz. A segunda suposição fundamental é que, seria possível conseguir, desta maneira, alto rendimento com cultivos microalgais, ricos em óleo, aproximadamente ou até mais de 50% da biomassa seca em lipídios.

Os projetos do Research Institute of Innovative Technology for the Earth, RITE (Instituto de Pesquisa de Tecnologias Inovadoras para a Terra) estão desenvolvendo métodos efetivos e limpos para a fixação biológica de dióxido de carbono, baseada na integração efetiva das funções fotossintéticas dos microrganismos. Além disso, eles vêm desenvolvendo tecnologias para converter produtos da fotossíntese em óleo, extratos de proteína, lipídios e carboidratos desses microrganismos (Michiki, 1995).

Obeve-se rendimento estimado de 67,5 tM (toneladas métricas) ha⁻¹ ano⁻¹ de biomassa seca algal contendo 40% de lipídios (óleo) em um trabalho envolvendo 40 hectares de tanques a um custo de US\$ 39.850 ha⁻¹ e US\$ 274 tM⁻¹ (Benemann *et*

al., 1982). Já Neenan *et al.* (1986) obtiveram uma produção de biomassa seca com 30% de lipídios de $17 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, ou seja, rendimento anual de $62,5 \text{ tM ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ a um custo de US\$ 43.283 ha^{-1} e US\$ 433 tM^{-1} . É difícil avaliar a diferença entre os custos de produção, uma vez que, são resultantes do tipo de sistema e de manejo adotado pelos pesquisadores. Por exemplo, em Heemann *et al.*, (1986) o custo da água é cerca de 12% do total, comparado com menos de 4% in Benemann *et al.*, (1982).

Entre as biomassas, usualmente as microalgas possuem eficiências fotossintéticas superior às árvores (Shay, 1993). Certas microalgas quando comparadas a plantas oleaginosas apresentam maior espectro de ácidos graxos, alguns com cadeia contendo mais de 18 carbonos (Belarbi *et al.*, 2000). Algumas espécies de microalgas marinhas contêm na composição da fração lipídica quantidades altas de ácidos graxos poliinsaturados n-3 (“Highly unsaturated fatty acids” - HUFAs) de cadeia longa, tais como o eicosapentanoico (EPA - 20:5_{n-3}) e decosahecanoico (DHA- 22:6_{n-3}), conforme Medina *et al.*, (1998), os quais têm sido reportados como essenciais para o crescimento ótimo de várias espécies de larvas de bivalves (Delaunay *et al.*, 1993) e de bivalves na fase juvenil (Parrish *et al.*, 1995; Knauer & Southgate, 1997).

Os lipídios correspondem em média a 11% da massa seca de *Spirulina platensis* e 12% de *Spirulina maxima*, produzidas em laboratório, sendo de grande importância para várias aplicações. São citadas como produtoras de ácidos graxos poliinsaturados em sua fração lipídica, podendo apresentar de 20 a 30% desta fração em ácidos graxos essenciais, ceras, fosfolipídios (Nichols & Wood, 1968; Paoletti *et al.*, 1980).

Os lipídios de algas são tipicamente compostos por glicerol, açúcares, ou seja, bases esterificadas por ácidos graxos contendo um número variável de carbonos (C₁₂-C₂₂), podendo ainda ser saturados ou insaturados. Algumas cianobactérias, especialmente as filamentosas, possuem uma quantidade muito grande de ácidos graxos poliinsaturados (20-60% do total). Por outro lado, espécies têm mostrado fotoassimilação anoxigênica de CO₂ com sulfito como doador de elétrons quando necessita produzir ácidos graxos poliinsaturados. Algas eucarióticas contêm predominantemente ácidos graxos saturados ou monoinsaturados e triglicerídeos como os mais comuns constituintes dos lipídios armazenados, sendo superiores a 80% do total da fração lipídica (Becker, 2004).

Os teores de lipídios totais em porcentagem (%) da massa seca para diferentes classes de algas, citado por Michael e Borowitzka (1988) são: *Cyanophyceae*= 2-23; *Chrysophyceae*= 12-72; *Prymnesiophyceae*= 5-48; *Cryptophyceae*= 3-17; *Xanthophyceae*= 6-16; *Bacillariophyceae*= 1-39; *Chlorophyceae*= 1-70 e *Euglenophyceae*= 17.

Comparações entre alimentos utilizados na alimentação humana, produção de óleo e diferentes espécies de algas podem ser observadas na Tabela 2.

Tabela 2. Composição geral de alimentos humanos e de diferentes algas (%massa seca) *

Produtos	Proteína	Carboidratos	lipídios
Carne	43	1	34
Leite	26	38	28
Arroz	8	77	2
Soja	37	30	20
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Spirulina máxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11

* Fonte: Becker (1994)

A *Spirulina* poderá ser a melhor opção, como alternativa para produção de biomassa seca alimentar em regiões áridas com escassez de água, pelo seu alto valor protéico (60 a 70%), por responder bem à radiação solar intensa, as altas temperaturas (30-37°C), crescer bem em águas com alta salinidade, alcalina, e além disso poder produzir maior conteúdo de lipídios através do controle de nitrogênio no meio. Já foi observado que o conteúdo de lipídios em *Spirulina* aumenta com a diminuição da concentração de nitrato no meio de cultivo e redução da temperatura, efeito este que foi mais intenso que o obtido com a redução da temperatura apenas (Mendes, 1992). Em um cultivo de *Spirulina* sp., com diminuição do nitrogênio, o rendimento dobrou e a produção de lipídios triplicou em relação ao crescimento tradicional com 2,5 g L⁻¹ de KNO₃ (Torres, 1994). A microalga *Spirulina* sp., cultivada em tanques de pequena profundidade, pode dobrar a sua biomassa seca a cada 2 a 5 dias. Este resultado representa um rendimento 20 vezes maior em proteína que a soja numa mesma área, 40 vezes maior que o milho e 400 vezes que a carne bovina (Henrikson, 1989).

São muitas espécies de microalgas que acumulam maior teor de lipídios quando cultivadas em deficiência de nitrogênio (Becker, 2004). Estudos com 30 espécies de microalgas mostraram que algas verdes, com 17% de lipídios, aumentaram 2 a 3 vezes o seu conteúdo lipídico, após 4 a 9 dias de ausência de nitrogênio (Shifrin & Chisholm, 1981). Quando nitrato, fosfato e bicarbonato estão em baixas concentrações, há aumento significativo na fração de carboidratos das células decrescendo a de proteína total, acompanhado de aumento da concentração de cloreto de sódio (Tedesco & Duerr, 1989). Observaram também efeitos importantes com a ausência de nitrogênio no aumento da concentração de lipídios e ácidos graxos (Tedesco & Duerr, 1989). Dote *et al.*, (1994) encontrou em *Botryococcus braunii* 63,1 % de carbono em sua biomassa seca.

Sheehan *et al.*, (1998) determinaram o teor de lipídios de várias espécies de microalgas pertencentes à classe *Bacillariophyceae*, analisadas na fase exponencial de crescimento, quando submetidas por sete dias à limitação de nitrogênio e dois dias com limitação de sílica. O maior teor de lipídios foi apresentado pela espécie *Navicula* sp. (NAVIC 1), o qual aumentou de 22% com células na fase exponencial, para 49% em deficiência de sílica e para 58% quando deficientes em nitrogênio. Para *Chaetoceros muelleri* o teor passou de 19% para 39% e deste para 38% respectivamente.

Em relação à temperatura, promovendo-se um “stress” em cultura de *Spirulina*, observou-se que um aumento de 30°C para 42°C promoveu decréscimo de 58,6% para 45% do conteúdo de proteínas, aumento de 29,9% para 38,3% do conteúdo de carboidratos e aumento de 7,4% para 11,5% do conteúdo de lipídios totais (Tomaselli *et al.*, 1993). Já Macedo & Alegre (2001) obtiveram com a diminuição da temperatura de 35°C para 25°C, redução de 15,4% no teor de lipídios totais no meio 2,5 g L⁻¹ de KNO₃, enquanto que para o meio 0,2 g L⁻¹ de KNO₃ e meio com ausência de nitrogênio, a redução do teor de lipídios foi de 5,7% e 6,4% respectivamente. Contrariando o resultado apresentado por Macedo (1992), para *Spirulina* sp., no qual concluiu que com a redução da temperatura aumentar-se-ia o teor de lipídios.

Segundo Minowa *et al.* (1995) a gordura bruta contida em uma determinada matéria-prima pode ser convertida em óleo, desde que seja solúvel em diclorometano. As células algais de *Dunaliella tertiolecta* apresentaram alto teor de gordura bruta ou lipídios, cerca de 20,5% da massa seca. Todavia, o teor de óleo excedeu o teor de lipídios, apresentando valor médio de 37%, isso demonstra que não somente a gordura, mas também outros compostos orgânicos como proteínas, fibras e carboidratos, são convertidos em óleo através da liquefação termoquímica. Esses autores concluíram que o óleo produzido de *Dunaliella tertiolecta* por liquefação termoquímica direta foi comparável ao óleo de origem fóssil. A liquefação termoquímica apresenta-se como um método promissor para produção de energia, possibilitando sua aplicação a várias espécies de microalgas. Segundo esses autores, a liquefação termoquímica pode

contribuir para a criação de um sistema de produção de energia através do cultivo massal de microalgas, mitigando o aquecimento global. Além de ter a vantagem de considerar o material úmido quando comparada à combustão direta, gaseificação e pirólise, porque não requer um processo de secagem (Sawayama *et al.*, 1999).

A liquefação termoquímica foi um método efetivo também para converter células algais de *Botryococcus braunii* em combustível líquido e recuperar hidrocarbonos, obtendo uma maior quantidade de óleo do que hidrocarbonos, sendo o óleo equivalente em qualidade ao óleo de petróleo, apresentando somente viscosidade baixa, variando de 64-160 MPas (Dote *et al.*, 1994). Utilizando o mesmo processo Minowa *et al.* (1995) encontraram para a espécie *Dunaliella terliolecta* valor de viscosidade de 2.700 MPas.

A biomassa seca é a forma mais comum de energia renovável, tendo ótimo potencial para resolver problema de energia, de tal modo que, minimize-se o efeito estufa e o esgotamento de recursos energéticos não renováveis. De acordo com McKendry (2002) quando produzida de modo sustentável, as biomassa secas emitem a mesma quantidade de carbono durante a conversão, quanto ao que é absorvida para o crescimento das plantas. É desejável, a produção de uma biomassa seca com potencial para alto rendimento e baixo custo de produção industrial de combustíveis líquidos (Miau & Wu, 2004). Segundo Hughes & Benemann (1997), os biocombustíveis poderiam substituir uma fração substancial dos combustíveis fósseis usualmente utilizados globalmente.

Combustíveis obtidos através de pirólise de biomassa seca têm menor teor de enxofre e nitrogênio do que combustíveis fósseis tais como carvão vegetal e petróleo, sendo portanto, mais limpos e menos poluentes (Churin & Delmon, 1989; Putun, 2002). Se os combustíveis são eficientemente recuperados pelo processo fotossintético, as microalgas podem ser utilizadas como combustível substituindo o combustível fóssil (Minowa *et al.*, 1995). Estes pesquisadores têm buscado produzir combustíveis de microalgas.

Recentemente muitas pesquisas têm focado a identificação de espécies que produzam biomassa seca de forma sustentável, as quais possam prover produções de alta energia, para substituir combustíveis fósseis convencionais. Tem sido desenvolvida a tecnologia de pirólise rápida para maximizar o rendimento líquido. Todavia, a maioria das pesquisas tem se concentrado sobre materiais lignocelulósicos, tais como: madeira de pinheiro, talo e palha de algodão, talo de tabaco (Demirbas, 2002; Gercel, 2002; Putun, 2002). Não existindo muitas informações sobre produção de energia de pirólise rápida de microalgas, as quais usualmente apresentam maior eficiência fotossintética, maiores produções de biomassa seca e crescimento mais rápido quando comparada a materiais lignocelulósicos (Milne *et al.*, 1990; Ginzburg, 1993; Dote *et al.*, 1994; Minowa *et al.*, 1995).

A pirólise rápida é um processo de alta temperatura, no qual uma biomassa seca é rapidamente aquecida na ausência de oxigênio. Aspectos essenciais do processo de pirólise rápida são: o alto aquecimento e a taxa ou velocidade de transferência de calor, com temperaturas de reação de pirólise cuidadosamente controlada ao redor de 500°C, tempo de residência de calor curto é menor que dois segundos e rápido congelamento do vapor de pirólise (Bridgwater, 1999; Bridgwater *et al.*, 1999).

Algumas espécies de microalgas podem sofrer profundas diferenças na organização celular, modo de crescimento e habilidade para manipular seu metabolismo através de manipulações simples de propriedades químicas do meio de cultura (Behrens & Kyle, 1996). Por exemplo, a *Chlorella protothecoides* é uma microalga que pode crescer tanto fotoautotroficamente como heterotroficamente sob condições culturais diferentes. O crescimento heterotrófico de *Chlorella protothecoides* resulta em alta produção de biomassa seca e acumulação de um alto teor de lipídios em suas células. Culturas heterotróficas não têm sido utilizadas somente para melhorar a eficiência e reduzir o custo de produção de biomassa seca, mas também, pode ser usada para produção eficiente de algum metabólito favorável, exemplo para produzir biodiesel (Miao & Wu, 2004). Estes pesquisadores obtiveram para a microalga heterotrófica *Chlorella protothecoides* rendimento máximo de biodiesel entre 57,2 e 57,9%, os quais foram obtidos em temperaturas variando de 450 a 500°C, ao passo que para plantas superiores tais como: pinheiro (madeira), talos e palha de algodão, talo de fumo e bagaço de girassol, o máximo de rendimento de óleo variou entre 40 e 49% e foi obtido com temperaturas variando entre 500-550°C (Demirbas, 2002; Gercel, 2002; Putun, 2002). Isso se deve principalmente a diferença na composição química dessas plantas, mas ao contrário das plantas superiores, as microalgas são compostas principalmente de proteínas, lipídios e carboidratos solúveis em água (Miao & Wu, 2004). Esses compostos são provavelmente pirolisados mais facilmente do que a celulose, a lignina e a hemicelulose, componentes químicos essenciais das plantas superiores (Raveendran *et al.*, 1996; Meier & Faix, 1999; Oasma *et al.*, 2003 a,b).

As propriedades-chave para que um biodiesel possa ser utilizado como substituto do diesel são a viscosidade, valor calórico, densidade e estabilidade (Bridgwater & Peacocke, 2000). Analisando a Tabela 3, percebe-se que em geral, o biodiesel de microalgas apresenta qualidade superior ao de madeira. Todavia, o biodiesel de HC (*Chlorella protothecoides* - heterotrófica) apresentou teor de oxigênio muito menor, o que melhora sua estabilidade no armazenamento e seu valor calórico. Minowa & Sawayama (1999) desenvolveram e propuseram um mecanismo de reação através do processo de gaseificação, no qual, a biomassa seca contendo alto teor de água é gaseificada diretamente a gás combustível rico em metano, sem passar por secagem prévia.

Tabela 3. Comparação entre a composição elementar e propriedades físicas de óleo fóssil e biodiesel oriundos de pirólise rápida de madeira e *Chlorella protothecoides* autotrófica (AC) e heterotrófica (HC)

Propriedades	Valores típicos			Óleo fóssil ^a
	Madeira ^b	Biodiesel AC ^c	HC ^c	
C	56,4%	62,07%	76,22%	83,0-87,0%
H	6,2%	8,76%	11,61%	10,0-14,0%
O	37,3%	19,43%	11,24%	0,05-1,5%
N	0,1%	9,74	0,93%	0,01-0,7%
S	n.d ^d	n.d	n.d.	0,75-1,0%
Densidade (Kg L ⁻¹)	1,2	1,06	0,92	0,75-1,0
Viscosidade (Pa s)	0,04-0,20 (a 40°C)	0,10 (a 40°C)	0,02 (a 40°C)	2-1000
Valor calórico (MJ kg ⁻¹)	21	30	41	42
Estabilidade	Não tão estável como o combustível fóssil	Não tão estável como o combustível fóssil, porém mais estável que o biodiesel de madeira		

^a(McKendry, 2002; Chen & Xu, 1993); ^b(Bridg Water *et al.*, 1999; Bridg ater Peacocke, 2000);

^c(Miao & Wu, 2004); ^dNão determinado

Os trabalhos realizados até então, buscando-se a produção de um biodiesel oriundo de microalgas, apontaram como maior dificuldade para uma produção economicamente viável, o alto custo de produção da biomassa seca e da extração do óleo. Foi indicado que somente um sistema de muito baixo custo, baseado em tanques abertos, sem cobertura plástica, agitados a baixas velocidades e utilizando um processo muito simples de coleta poderia ser considerado para a obtenção de um biocombustível. Além disso, se o sistema de produção se aproximasse aos baseados nas práticas de engenharia agrícola, em preferência à engenharia química, utilizando fertilizantes agrícolas e métodos de construção mais aplicáveis, poder-se-ia baixar o custo inicial, bem como o de manutenção. Enfim, conclui-se que há necessidade de se continuar buscando soluções economicamente viáveis para minimizar o crescente aumento de CO₂ na atmosfera, ou viabilizar as existentes.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Arredondo-Vega, B.O., Cordero-Esquivel, B., Herrero, C., Abalde, J. **Manual de Técnicas Bioquímicas Aplicadas a Ficologia**, CIBNOR, México, 1997, 41 p.
- Becker, E.W. 1994. **Microalgae-Biotechnology and Microbiology**. (ed) Cambridge University Press, Cambridge.

- Becker, W. 2004. Microalgae in human and animal nutrition. In: **Handbook of Microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. (Richmond, A. Ed.), Blackwell Publishing, p. 312-351.
- Behrens, P.W., Kyle, D.J. 1996. Microalgae as a source of fatty acids. **Journal of Food Lipid**, v. 3, p. 259-272.
- Belarbi, E.H, Molina, E., Chisti, Y. 2000. A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish. **Process Biochemistry**, n. 35, p. 951-969.
- Benemann, J.R. 1993. Utilization of carbon dioxide from fossil fuel-burning power plants with biological systems. **Energy Convers. Mgmt**, v.34, n. 9-11, p. 999-1004.
- Benemann, J.R., Goebel, R.P., Weissman, J.C., Augenstein, D.C. 1982. Microalgae as a source of liquid fuels. **Final Report**, U.S. Department. of Energy, 202 p.
- Berbigier, P., Bonnefond, J.M., Mellmann, P. 2001. CO₂ and water vapour for 2 years above euroflux forest site. **Agricultural and Forest meteorology**, v. 108, p. 183-197.
- Boney, A.D. 1986. **Phytoplankton**. Eduward Arnold (Publishers) Ltda. 115 p.
- Borowitzka, M.A. 1992. Algal biotechnology products and processes: Matching science and economics. **Journal Appl. Phycol.**, v.4, p. 267-279.
- Borowitzka, M.A 1994. Products from algae. In: **Algal Biotechnology in the Asia-Pacific Region** (Phang *et alii.*, eds), University of Malaya, p. 5-15.
- Borowitzka, M.A, Borowitzka, L. 1988. **Micro-algal Biotechnology**. 1 ed, Cambridge University Press, 477 p.
- Bousquet, P., Peylin, P., Ciais, P., Le Quere, C., Friedlingstein, P., Tans, P.P. 2000. Regional changes in carbon dioxide fluxes of land and oceans since 1980. **Science**, v. 290, n. 549, p. 1342-1346.
- Bridgwater, AV. 1999. Principles and practice of biomass fast pyrolysis processes for liquids. **Journal Anal. Appl. Pyrolysis**, v. 51, p. 3-22.
- Bridgwater, AV., Meier, D., Radlein, D. 1999. An overview of fast pyrolysis of biomass. **Org. Geochem.**, v. 30, P. 1479-1493.
- Bridgwater, AV., Peacocke, G.V.V. 2000. Fast pyrolysis processes for biomass. **Renew. Sust. Energy Rev.**, v. 4, p. 1-73.
- Brown, L.M., Zeiler, K.G 1993. Aquatic biomass and carbon dioxide trapping. **Energy Convers. Mgmt**, v. 34, n. 9-11, p. 1005-1013.
- Brown, L.R. 1993. "State of the world - 1993". W.W. Norton & Company, New York, 1993.
- Brown, M.R., Garland, C.D., Jeffrey, S.W., Jameson, I.D., Leroi, J.M. 1993. The gross and amino acid compositions of batch and semi-continuous cultures of *Isochlysis* sp. (clone T-iso), *Pavlova lutheri* and *Nannochloropsis oculata*. **Journal of Applied Phycology**, v.5, p.285-296.

- Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K., Dunstan, G.A. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. **Aquaculture**, v.151, p.315-331.
- Brown, S., Lugo, A.E. 1984. Biomass of tropical forest: A new estimate based on forest volumes **Science**, v. 223, p. 1290-1293.
- Brown, S., Lugo, A.E., Chapman, J. 1986. Biomass of tropical tree plantations and its implication for the global carbon budget. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 13, p. 390-394.
- Chen, S.Z., Xu, P.R. 1993. **Petroleum Chemistry**. East China Institute of Chemical Technology Press, Shanghai (in Chinese).
- Churin, E., Delmon, B. 1989. What can we do with pyrolysis oils? In: Ferrer, G.L., Maniatis, K., Buekens, A Bridgwater, A.V. (Eds), **Pyrolysis and Gasification**. Elsevier Applied Science, London, pp. 326-333.
- Cohen, 1986. Products from microalgae. In: **Handbook of Microalgae Mass Culture** (Richmond, A. Ed.), P. 421-454, CRC Press.
- Cohen, E., Koren, A, Arad, S. 1991. A closed system for outdoor cultivation of microalgae. **Biomass and Bioenergy**, v.1, n. 2, p. 83-88.
- Cooper, C.F. 1983. Carbon storage in managed forest. **Canadian Journal of Forest Research**, v.13, n. 1, p. 155-165.
- Cox, P.M., Betts, R.A, Jones, C.D., Spall, S.A, Totterdell, I.J 2000. Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 184- 187.
- Delaunay, F., Marty, J., Moal, J., Samain, J.F. 1993. The effect monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. **Journal Exp. Mar. Biol. Ecol.**, v.173, p. 163-171.
- Derner, R.B. 1995. **Crescimento de microalga *Thalassiosira fluviatilis* (classe *Bacillariophyceae*) sob diferentes regimes de iluminação, na Região sul do Brasil**. Florianópolis, UFSC, 108 p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura), Curso de Pós-Graduação em Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Dote, Y., Sawayama, S., Inoue, S., Minowa, T., Yokoyama, S. 1994. Recovery of liquid fuel from Hydrocarbon-rich microalgae by thermochemical liquefaction. **Fuel**, v.73, p. 1855-1857.
- Drewitt, G.B., Black, T.A, Nestic, A., Humphreys, E.R, Jork, E.M., Swason, R., Ethier, G.J., Griffis, T., Morgenstern, K. 2002. Measuring Forest floor CO₂ fluxes in a Douglas-fir forest. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 110, p. 299-317.
- Durand-Chastel, H. 1993. La Spiruline, algue de vie. **Bull. Inst. Océanogr.**, Monaco, v.12, p. 7 11.
- Esteves, F.A. 1998. **Fundamentos de Limnologia**. 2ªed. Rio de Janeiro: INTELIGÊNCIA. 602 p.
- Fábregas, J., Herrero, C, Cabezas, B., Abalde, J. 1985. Mass culture and biochemical variability of the marine microalgae *Tetraselmis suecica* Kylin (Butch) with high nutrient concentrations. **Aquaculture**, v. 49, p. 231-244.

- Falkowski, P.G, Raven, J.A.1997. **Aquatic photosynthesis**. Blackwell Science. 375 p.
- Gercel, H.F. 2002. The effect of a sweeping gas flow rate on the fast pyrolysis of biomass. **Energy Source**, v. 24, 633-642.
- Ginzburg, B.Z. 1993. Liquid fuel (oil) from halophilic algae: a renewable source of non-polluting energy. **Renew. Energy**, v. 3. p. 249-252.
- Goldman, J.C 1979. Outdoor algal mass cultures - I. Applications. **Wat. Res.**, v. 13, p. 1-9.
- Grace, J., Lloyd, J., McIntyre, J., Miranda, A.C, Meir, P., Miranda, H.S., Nobre, C, Moncrieff, J., Massheder, J., Mahli, Y., Wright, I., Gash, J. 1995. Carbon dioxide uptake by undisturbed tropical rainforest in southwest Amazonia, 1992-1993. **Science**, v.270, p. 778-780.
- Gudin, C, Bermord, A., Chaumont, D., Thepemier, C, Hardy, T. 1984. Direct bioconversion of solar energy into organic chemical. **The World Biotech Report**, v.1, p. 541-559.
- Guenther, A.B., Zimmerman, P.R, Harley P.C., Monson R.K., R. Fall. 1993. Isoprene and monoterpene emission rate variability: model evaluations and sensitivity analyses. **Journal Geophys. Res.**, v. 98, p. 12609-12617.
- Guillard, R.R.L. 1975. **Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates**. In: Smith, W.L. e Chanley, M.H. (Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum, New York, p. 29-60.
- Hall, D.O., House, J.I. 1993. Reducing atmospheric CO₂, using biomass energy and phtobiology. **Energy Convers. Mgmt**, v. 34, n. 9-11, p. 889-896.
- Hall, D.O., Mynick, H.E., Willians, R.H. 1991. **Nature**, v. 353, p. 11.
- Henrikson, R., 1989. **Earth food Spirulina**: Ronore Enterprises Inc., 180 p.
- Herrero, C., Cid, A., Fabregas, J., Abalde, J. 1991. Yields in biomass and chemical constituents of four commercially important marine microalgae with different culture media. **Aquacultural Engineering**, v.25, p.207-216.
- Hodnett, M.G, Vendrame, I., Oyama, M.D., Marques Filho, A de O., Tomasella, J. 1997. Soil water storage and groundwater behaviour in a catenary sequence beneath forest in Central Amazonia. II. Floodplain water table behaviour and implication for streamflow generation. **Hydrology and Earth Systems Sciences**, v. 1, p. 279-290.
- Hughes, E., Benemann. J.R. 1997. Biological fossil CO₂ mitigation. **Energy Convers. Mgmt.**, v. 38, p. 467-473.
- Irvine, J., Perks, M.P., Magnani, F., Grace, J. 1998. The response of *Pinus sylvestris* to drought: stomatal control of transpiration and hydraulic conductance. **Tree Physiology**, v. 18, n. 6, p. 393-402.
- Iwamoto, H. 2004. Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products major industrial species. In: **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. Blackwell Publishing, p. 255-263.

- Jones, I.S.F. 2004. The enhancement of marine productivity for climate stabilization and food security. **In: Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology.** Blackwell Publishing, p. 534- 544.
- Kattenberg, A., Giorgi, F., Grassl, H., Meehl, G.A., Mitchell, J.F.B., Stouffer, R.F., Tokioka, T. Weaver, A.J, Wigley, T.M.L. 1996. Climate models - projections of future climate. **In: JT Houghton *et alii.*, IPCC: Climate Change 1995: The Science of Climate Change,** p. 285-359 Cambridge University Press, UK.
- Knauer, J., Southgate, R.C. 1997. Growth and fatty acid composition of pacific oyster (*Crassostrea gigas*) spart fed a spray-dried freshwater microalga (*Spongiococum excentricum*) and microencapsulated lipids. **Aquaculture,** v. 154, p. 293-303.
- Kurano, N., Ikemoto, H., Miyashita, H., Hasegawa, T., Hata, H., Miyachi, S. 1995. Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis. **Energy Cnvers. Mgmt,** v. 36, n. 6-9, p. 689-692.
- Lasco, R.D., Lales, J.S., Arnuevo, T.M., *et alii.* 2002. Carbon (CO₂) storage and sequestration of land cover in the Leyte Geothermal reservation. **Renewable Energy,** v. 25, p. 307-315.
- Lee, R.E. 1995. **Phycology.** 2ed. Cambridge University Press. 645 p.
- López-Eliás, J.A., Voltolina, D., Enríquez-Ocaña, F., Gallegos-Simental, G 2005. Indoor and outdoor mass production of the diatom *Chaetoceros muelleri* in a mexican commercial hatchery. **Aquacultural Engineering,** article in press. www.sciencedirect.com.
- Macedo, I. C. 1992. The Sugar Cane Agro industry: its contribution to reducing CO₂ emissions in Brazil. **Biomass and Bioenergy,** v.3, n.2, p. 77-90.
- Macedo, R.V.T., Alegre, R.M. 2001. Influência do teor de nitrogênio no cultivo de *Spirulina maxima* em dois níveis de temperatura - parte II: produção de lipídios. **Ciência dos Alimentos,** v.21, n.2, p.1-10.
- Malhi, Y., Grace, J. 2000. Tropical forests and atmospheric carbon dioxide. **Tree,** v. 15, n. 8, p.332-337.
- Malhi, Y., Nobre, A.D., Grace, J., Kruijt, B., Pereira, M.G.P., Culf, A., Scott, S. 1998. Carbon dioxide transfer over a central Amazonian rain forest. **Journal of Geophysical Research Atmospheres,** v. 103, n. 24, p. 31593-31612.
- Malhi, Y., Nobre, A.D., Grace, J., Pereira, M.G.P., Culf, A., Scott, S. 1999. The carbon balance of tropical, temperate and boreal forest. **Plant Cell Environment,** v. 22, p. 415-740.
- Martin, J.H., Fitzwater, S.E., Gordon, R.M. 1991. "We still say iron deficiency limits phytoplankton growth in the subarctic pacific". **Journal of Geophysical Research,** v. 96, p. 20.699-20.700.
- Martin, J.H., Gordon, R.M., Fitzwater, S.E. 1991. "The case for iron". **Limnology Oceanogr.,** v. 36, n. 8, p.1793-1802.

- Masakazu, M., Ikenouchi, M. 1997. The biological CO₂ fixation and utilization project by rite (2) - Screening and breeding of microalgae with High Capability in fixing CO₂. **Energy Convers. Mgmt.**, v. 38, p. S493-S497.
- McKendry, P. 2002. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. **Bioresources Technology**, v. 83, p. 37-46.
- Medina, E., Klinge, H. 1983. Productivity of tropical forests and tropical woodlands. **In: Lange et alii.**, 1983. **Encyclopedia of Plant Physiology**, v. 12B, p. 281-303.
- Medina, R.A., Molina G.E., Giménez, G.A., Gonzáles, I.M.J. 1998. Downstream processing of algal polyunsaturated fatty acids. **Biotechnology Advances**, v. 16, n. 3, p. 517-580
- Meier, D., Faix, O. 1999. State of the art of applied fast pyrolysis of lignocellulosic materials – a review. **Bioresource technology**, v. 68, p. 71-77.
- Mendes, L.B.B. **Biossíntese de produtos de química fina: ácido gama-linolênico a partir da microalga *Spirulina maxima***. 1992, p. 89. Dissertação de Mestrado. Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.
- Miao, X., Wu, Q., 2004. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. **Journal of Biotechnology**, v. 110, p. 85-93.
- Miao, X., Wu, Q., Yang, C. 2004. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 71, p. 855-863.
- Michael, A., Borowitzka, M.A. 1988. Fats, oil and hydrocarbons. **In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J. (eds). Microalgal Biotechnology**, Cambridge University Press, USA, p. 257--287.
- Michiki, H. 1995. Biological CO₂ fixation and utilization Project. **Energy Convers. Mgmt.**, v. 36, n. 6-9, p. 701-705
- Milne, T.A., Evans, R.J., Nagle, N. 1990. Catalytic conversion of microalgae and vegetable oils to premium gasoline, with shape-selective zeolites. **Biomass** 21, p. 219-232
- Minowa, T., Sawayama, S. 1999. A novel microalgal system for energy production with nitrogen cycling. **Fuel**, v. 78, n. p. 1213-1215.
- Minowa, T., Yokoyama, S., Kishimoto, M., Okakurat, T. 1995. Oil production from algal cells of *Dunaliella tertiolecta* by direct thermochemical liquefaction. **Fuel**, v. 74, n. 12, p. 1735-1738.
- Molina, G.E., Belarbi, E.H., Ación, F.F.G., Robles, M.A., Chisti, Y. 2003. **Biotechnology Advances**, v. 20, p. 491-515.
- Molina, G.E., Sánchez, P.J.A., Garcia C.F., Robles M.A. 1995. The production of polyunsaturated fatty acids by microalgae: from strain selection to product purification. **Process Biochemistry**, v. 30, n. 8, p. 711-719.
- Mund, M., Kummert, E., Hein, M., Bauer, G.A., Schulze, E.D. 2002. Growth and carbon stocks of a spruce forest chronosequence in central Europe. **Forest Ecology and Management**, v. 171, p. 275-296.

- Neenan, B., Feinberg, D., Hill, A., McIntosh, R., Terry, K. 1986. Fuels from microalgae: Technology status, potential, and research requirements. **Report**, Solar Energy Research Institute, Golden, Colorado, SERI/SP-231-2550, 158p.
- Nichols, B.W., Wood, B.T.B. 1968. The occurrence and biosynthesis of gamma-linolenic acid in blue-green alga *Spirulina platensis*. **Lipids**, v.3, p.46.
- Oasmaa, A., Kuoppala, E., Gust, S., Solantausta, Y. 2003b. Fast pyrolysis of forestry residue. 1. Effect of extractives on phase separation of pyrolysis liquids. **Energy Fuels**, v. 17, p. 1-12.
- Oasmaa, A., Kuoppala, E., Solantausta, Y. 2003a. Fast pyrolysis of forestry residue. 2. Physicochemical composition of product liquid **Energy Fuels**, v. 17, p. 433-443.
- Oh-Hama, T., Miyachi, S. 1988. Chlorella. **In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J. (eds). Microalgal Biotechnology**, Cambridge University Press, USA p. 3-27.
- Olaizola, M. 2003. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. **Biomolecular Engineering**, v.20, p. 459-466.
- Paoletti, C., Vicenzini, M., Bocci, F. 1980. Composizione biochimica generale delle biomasse di *Spirulina platensis* e *Spirulina maxima*. **In: MATERASSI, R. (ed). Prospettive della Ricerche**. Accademia Dei Georgofili. Firenze, v.20-21, p.111-125.
- Parrish, C.C., MacKenzie, C.H., MacDonald, B.A., Hatfield, E.A 1995. Seasonal studies of seston lipids in relation to microplankton species composition during reproductive conditioning. **Journal Exp. Mar. Biol. Ecol.**, v. 129, p. 151-164.
- Parry, M., Arnell, N., Hulme, M., Nicholls, R., Livermore, M. 1998. Adapting to the inevitable. **Nature**, v. 395, p. 741.
- Pervaiz, M., Sain, M.M. 2003. Carbon storage potential in natural fiber composites. **Resources Conservation e Recycling**, v. 39, p. 325-340.
- Putun, A.E. 2002. Biomass to bio-oil via fast pyrolysis of cotton straw and stalk. **Energy Sources**, v. 24, p. 275-285.
- Ramanathan, V. 1998. Trace-gas greenhouse effect and global warming. **Ambio**, v. 27, n. 3, p. 187-197.
- Raveendran K., Ganesh, A., Khilar, K.C. 1996. Pyrolysis characteristics of biomass and biomass components. **Fuel**, v. 75, p. 987-998.
- Raven, J.A 1988. Limits to growth. **In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J (eds). Microalgal Biotechnology**, Cambridge University Press, USA, p. 331-356.
- Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhom, S.E. 2001. **Biologia Vegetal**. 6 ed. Editora: Guanabara Koogan, 906 p.
- Reijnders, L., Huijbregts, M.A.J. 2003. Choices in calculating life cycle emissions of carbon containing gases associated with forest derived biofuels. **Journal of Cleaner Production**, v. 11, p. 527-532.
- Richmond, A. 1990. Outdoor mass cultures of microalgae: Biological principles, production systems. **In: CRC Handbook of microalgal mass culture**. Florida: CRC Press, p. 285-330.

- Tedesco, M.A., Duerr, E.O. 1989. Light, temperature and nitrogen starvation effects on the total lipid and fatty acid content and composition of *Spirulina platensis* UTEX 1928. **Applied Phycology**, v.1, n.3, p.201-209.
- Tomaselli, L. 2004. The microalgal cell **In: Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. (Ed. Richmond, A.), Blackwell Publishing, p. 3-19.
- Tomaselli, L., Giovannetti, L., Torzillo, G. 1993. Physiology of stress response in *Spirulina* spp. **In: Doumenge, F.; Durand- Chastel, H., Toulemont, A (eds). Spiruline Algues de Vie**. Bulletin de L'Institut Océanographique, Monaco, n.12, p. 65-75.
- Torres, C.G. 1994. **Influência da Concentração de Nitrogênio na produção de lipídios e ácido gama-linolênico em *Spirulina maxima***. Rio de Janeiro, UFRRJ, 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Tecnologia de Alimentos), Curso de Pós-Graduação em Ciência de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- U.S. Department of Energy, Energy Information Agency, **Emissions of Greenhouse Gases in the United States**. 1997, DOE/EIA-A573(96), OCTOBER 1997.
- Valenzuela-Espinoza, E., Millan-Nunez, R., Nunez-Cebrero, F. 2002. Protein, carbohydrate, lipid and chlorophyll a content in *Isochrysis* aff. *galbana* (Clone T-iso) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. **Aquaculture Engineering**, v.25, p.207-216.
- Vitousek, P.M. 1994. Beyond global warming: Ecology and global change. **Ecology**, v. 75, p. 1861-1876.
- Vonshak, A. 1990. Recent advances in microalgal biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 6, p. 709-727.
- Vonshak, A., Cohen, Z., Richmond, A. 1985. The feasibility of mass cultivation of *Porphyridium*. **Biorecovery**, v. 8, p. 13-25.
- Weissman, J.C., Tillett, D.T. 1992. Design and operation of an outdoor microalgae test facility: large-scale system results. **FY 1989-1990 Aquatic Species Project Report**, National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado, NREL/MP - 232-4174, p. 32-56.
- Weissman, J.P., Goebel, R.P. 1987. Design and analysis of pond systems for the purpose of production fuels. **Report to Solar Energy Research Institute**, Golden, Colorado, SERI/STR-231-2840.
- Williams, M., Malhi, Y., Nobre, A.D., Rastetter, E.B., Grace, J., Pereira, M.G.P. 1998. Seasonal variation in net carbon exchange and evapotranspiration in a Brazilian rain forest: a modelling analysis. **Plant Cell and Environment**, v. 21, n. 10, p. 953-968.
- Williams, P.J. le B., Thomas, D.N., Reynolds, C.S. 2002. **Phytoplankton productivity: carbon assimilation in marine and freshwater ecosystems**. Blackwell Science. 386p.
- Zhang, X.Q., Xu, D. 2003. Potential carbon sequestration in China's forests. **Environmental Science and Policy**, v. 6, p. 421-432.