

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO
CENTRO DE CIENCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

FREDERICO PACHECO MILITÃO

Microalgas em sistemas de piscicultura: Aspectos ecofisiológicos e aplicações sustentáveis

VITÓRIA-ES

2022

FREDERICO PACHECO MILITÃO

Microalgas em sistemas de piscicultura: Aspectos ecofisiológicos e aplicações sustentáveis

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientadora: Prof. Dr. Valéria de Oliveira Fernandes

Co-orientador: Prof. Dr. Levi Pompermayer Machado

VITÓRIA-ES

2022

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

P116m Pacheco Militão, Frederico, 1992-
Microalgas em sistemas de piscicultura: Aspectos ecofisiológicos e aplicações sustentáveis / Frederico Pacheco Militão. - 2022.
120 f. : il.

Orientadora: Valéria De Oliveira Fernandes.
Coorientador: Levi Pompermayer Machado.
Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Botânica. 2. Algas - Cultura e meios de cultura. 3. Algas como alimento. 4. Algas como ração. 5. Produtos biológicos. 6. Lipídios na nutrição humana. I. De Oliveira Fernandes, Valéria. II. Pompermayer Machado, Levi. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

Frederico Pacheco Militão

**Microalgas em sistemas de piscicultura: Aspectos
ecofisiológicos e aplicações sustentáveis.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Biologia Vegetal.

Aprovada em 09 de março de 2022.

Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Valéria de Oliveira Fernandes (UFES)
Orientadora e Presidente da Comissão

Profa. Dra. Maria do Carmo Pimentel Batitucci (UFES)
Examinadora Interna

Prof. Dr. Stéfano Zorzal de Almeida (UFES)
Examinador Interno

Profa. Dra. Fernanda Brêda Alves (SEDU/ES)
Examinadora Externa

Prof. Dr. Jean Carlos Vencioneck Dutra (SEDU/ES)
Examinador Externo



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
VALERIA DE OLIVEIRA FERNANDES - SIAPE 2206666
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN
Em 09/03/2022 às 13:12

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/373919?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
MARIA DO CARMO PIMENTEL BATITUCCI - SIAPE 1172766
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN
Em 09/03/2022 às 14:19

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/373987?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
STEFANO ZORZAL DE ALMEIDA - SIAPE 1099750
Departamento de Oceanografia e Ecologia - DOE/CCHN
Em 09/03/2022 às 14:41

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/374034?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
GERALDO ROGERIO FAUSTINI CUZZUOL - SIAPE 1173398
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - PPGCBV/CCHN
Em 10/03/2022 às 09:18

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/374606?tipoArquivo=O>

Aos meus pais, mestres e amigos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), por possibilitarem o desenvolvimento da minha pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de DOUTORADO, a qual possibilitou a minha permanência na pesquisa por tantos anos.

Obrigado, de todo o meu coração, a minha orientadora Prof.^a Dr.^a Valéria de Oliveira Fernandes, pelos anos de orientação e amizade. Por todos os ensinamentos e conselhos ao longo desses mais de 10 anos que passei no LATEAC. Acima de tudo, obrigado por acreditar em mim e não ter me deixado desistir de chegar até aqui.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Levi Pompermayer Machado, ao qual devo boa parte da concepção dessa pesquisa. Obrigado por todo apoio científico, emocional e moral. Por ter aberto as portas da sua casa e de SP para mim, por ter me acompanhado nos períodos de coleta e por sempre se mostrar presente e pronto para ajudar a qualquer sinal de desespero. Foram muitos, obrigado!

Aos membros da banca, Dr^a Maria do Carmo Pimentel Batitucci, Dr^a Fernanda Brêda Alves, Dr. Stéfano Zorzal de Almeida e Dr. Jean Carlos Vencioneck Dutra, pelo gentil aceite para compor a banca de avaliação e contribuir para o melhoramento desta pesquisa.

Ao Stéfano Zorzal, pela disposição em ajudar, conselhos e companheirismo nos dias de laboratório. Obrigado por plantar a ideia da meta-análise e me guiar por esse caminho ainda desconhecido.

Meu muito obrigado a cada um dos integrantes do LATEAC, atuais e antigos, com os quais aprendi muito. Obrigado pela ajuda, pelos ensinamentos, momentos de descontração e encorajamento. Em especial, Bianka e Karoline por toda ajuda nas análises, contagens, as olhadinhas no liofilizador e nas estufas, obrigado!

Aos que tornaram essa jornada mais leve e agradável, Brener Alvarenga, Kathiani Bastos, Natália Bernardino, Fernando Hoste, Mayara Guarieiro, Ana Clara e Ronald Delgado. Obrigado pela amizade e companheirismo.

À Nair, dupla de todas as análises, obrigado por sempre estar disposta a me ajudar, sempre saindo tarde da noite da botânica. Obrigado por toda atenção e principalmente pela amizade e confiança.

À Fernanda, dupla nas disciplinas, obrigado pela ajuda nas análises, companheirismo e pela amizade.

Um obrigado muito especial para a maravilhosa Débora Aviz, pelo auxílio nas análises de proteínas, carboidratos e lipídeos. Seja calculando massa/volume, preparando soluções ou usando os equipamentos, você foi essencial. Obrigado pela amizade e carinho.

A todos os professores do PPGBV, que ao compartilhar seus conhecimentos contribuíram para o meu crescimento como aluno e profissional.

Em especial, a Professora Maria Do Carmo Pimentel Batitucci, exemplo de pessoa e profissional, obrigado por toda a simpatia, carinho e por sempre abrir a porta do seu laboratório, sendo de extrema importância para a conclusão das análises nesta pesquisa.

Ao professor Geraldo Rogério Cuzzuol, obrigado pelo cuidado, disponibilidade e por sempre permitir o uso do seu laboratório.

Obrigado aos piscicultores do Vale do Ribeira, Registro -SP, por abrirem as portas das suas pisciculturas para que as coletas fossem realizadas.

Aos meus pais, Marilene Pacheco e João Crispim, que nunca mediram esforços para que eu pudesse estudar e estar hoje conquistando meu título de doutor em biologia vegetal. Só foi possível chegar até aqui graças ao apoio e suporte incondicional que sempre recebi, amo vocês.

Aos amigos, aos colegas de turma e de botânica. Em especial Edvar, Francielen, Jéssica e galera do herbário Vies, obrigado pela troca de experiências, suporte e pelos momentos de alegria. Os almoços eram mais especiais com vocês!

A todos que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse concluído, muito obrigado.

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a potencialidade da biomassa microalgal como suplemento na alimentação humana e animal, a partir de espécies isoladas de tanques de pisciculturas. Dessa forma 10 espécies, de 9 gêneros e duas Divisões diferentes, foram selecionadas para aumento de biomassa e cultivo em escala laboratorial, isoladas a partir de sistemas de piscicultura no Município de Registro, São Paulo, Brasil. O cultivo foi do tipo batelada, sem aspersão direta de CO₂, pH inicial de 7 ± 0,05 e aeração constante de 3,5 L/min de ar. Os cultivos foram realizados em quadruplicada em meio ASM1 (Cyanophyta) e BBM (Chlorophyta), com inóculo inicial de 3,0 x10⁵ Cel/mL⁻¹, com exceção do cultivo de *S. hirsutum*, espécie com crescimento mais lento, o qual foi de 3250 Cel/mL⁻¹. As maiores concentrações de carboidratos totais solúveis, ao final do experimento, foram encontradas nas espécies *Chlorococcum* sp. (12 mg/g MS), *Kirchneriella* sp. (11,3 mg/g MS) e *M. wesenbergii* (11,3 mg/g MS). *Chlorococcum* sp. também apresentou as maiores concentrações de frutose (12,7 mg/g MS), sacarose (16,6 mg/g MS) e amido (934 mg/ g MS). *S. javanensis* (357 mg/g MS), *C. pulchra* (343 mg/ g MS), *S. hirsutum* (336 mg/g MS), *Chlorococcum* sp (307 mg/g MS), *H. reticulata* (306 mg/g MS), *Kirchneriella* sp. (304 mg/ g MS) e *C. vulgaris* (303 mg/g MS) não diferiram estatisticamente entre si, em relação a concentração de proteínas totais solúveis. *Chlorococcum* sp., *Chlorella vulgaris* e *Kirchneriella* sp., podem ser consideradas para utilização na complementação da alimentação animal. O elevado teor de amido encontrado nas espécies estudadas, sobretudo em *Scenedesmus* sp., *Chlorococcum* sp. e *S. hirsutum*, indica ainda, potencial utilização dessa biomassa na produção de bioetanol. O aumento do nitrogênio e da salinidade afetam positivamente o acúmulo de proteínas, enquanto que intensidades luminosas elevadas favorecem a síntese de carboidratos e lipídios. As condições ambientais empregadas em cultivo afetam a composição bioquímica das microalgas cultivadas e o tipo morfológico da espécie pode influenciar na resposta metabólica adotada. O conhecimento e a manipulação desses parâmetros, associado ao tipo morfológico da microalga cultivada, é uma forma efetiva para obtenção de biomassa com maior valor agregado, nutricional e comercial.

Palavras-chave: Cultivo de microalgas, bioprodutos, alimentação, piscicultura, meta-análise.

ABSTRACT

The present study aims to evaluate the potential of microalgal biomass as a supplement in human and animal nutrition, from species isolated from psiculture tanks. Thus, 10 species, from 9 genera and two different divisions, were selected for biomass increase and laboratory-scale cultivation, isolated from fish farming systems in the Municipality of Registro, São Paulo, Brazil. The cultivation was of the batch type, without direct spraying of CO₂, initial pH of 7 ± 0.05 and constant aeration of 3.5 L/min of air. The cultures were performed in quadruplicate in ASM1 (Cyanophyta) and BBM (Chlorophyta) medium, with an initial inoculum of 3.0×10^5 Cel/mL⁻¹, with the exception of *S. hirsutum*, a species with slower growth, which was of 3250 Cell/mL⁻¹. The highest concentrations of total soluble carbohydrates, at the end of the experiment, were found in *Chlorococcum* sp. (12 mg/g MS), *Kirchneriella* sp. (11.3 mg/g MS) and *M. wesenbergii* (11.3 mg/g MS). *Chlorococcum* sp. also had the highest concentrations of fructose (12.7 mg/g DM), sucrose (16.6 mg/g DM) and starch (934 mg/g DM). *S. javanensis* (357 mg/g MS), *C. pulchra* (343 mg/g MS), *S. hirsutum* (336 mg/g MS), *Chlorococcum* sp (307 mg/g MS), *H. reticulata* (306 mg/g MS) g MS), *Kirchneriella* sp. (304 mg/g MS) and *C. vulgaris* (303 mg/g MS) did not differ statistically from each other in terms of total soluble protein concentration. *Chlorococcum* sp., *Chlorella vulgaris* and *Kirchneriella* sp., can be considered for use in supplementing animal feed. The high starch content found in the studied species, especially in *Scenedesmus* sp., *Chlorococcum* sp. and *S. hirsutum*, also indicates the potential use of this biomass in the production of bioethanol. The increase in nitrogen and salinity positively affects the accumulation of proteins, while high light intensities favor the synthesis of carbohydrates and lipids. The environmental conditions used in cultivation affect the biochemical composition of cultivated microalgae and the morphological type of the species can influence the adopted metabolic response. The knowledge and manipulation of these parameters, associated with the morphological type of the cultivated microalgae, is an effective way to obtain biomass with greater added, nutritional and commercial value.

Keywords: Cultivation of microalgae, bioproducts, food, fish farming, meta-analysis.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 - Influência de fatores bióticos e abióticos no perfil bioquímico de microalgas cultivadas: Uma meta-análise

Figura 01 - Fluxograma da busca na base de dados e artigos incluídos na presente meta-análise.....	37
Figura 02 – “Forest plot” do efeito do fósforo no acúmulo de carboidrato nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	38
Figura 03 – “Forest plot” do efeito do fósforo no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	39
Figura 04 – “Forest plot” do efeito do fósforo no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	40
Figura 05 – “Forest plot” do efeito do nitrogênio no acúmulo de carboidratos nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	41
Figura 06 – “Forest plot” do efeito do nitrogênio no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	42
Figura 07 – “Forest plot” do efeito do nitrogênio no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	43
Figura 08 – “Forest plot” do efeito da salinidade no acúmulo de carboidratos nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	44
Figura 09 – “Forest plot” do efeito da salinidade no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	45
Figura 10 – “Forest plot” do efeito da salinidade no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	46
Figura 11 – “Forest plot” do efeito da luminosidade no acúmulo de carboidratos nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	47
Figura 12 – “Forest plot” do efeito da luminosidade no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	48

Figura 13 – “Forest plot” do efeito da luminosidade no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas	49
Figura 14 – “Forest plot” do efeito da temperatura no acúmulo de carboidratos nos diferentes tipos morfológicos de microalgas	50
Figura 15 – “Forest plot” do efeito da temperatura no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas	51
Figura 16 – “Forest plot” do efeito da temperatura no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.....	52

CAPÍTULO 2 - Caracterização bioquímica e crescimento de dez espécies de microalgas, associadas a piscicultura, para potencial aplicação alimentar

Figura 01 - Curva de crescimento dos cultivos.	78
Figura 02 - Curva de crescimento de <i>Staurastrum hirsutum</i>	79
Figura 03 - Concentração de carboidratos totais hidrossolúveis, frutose e sacarose (mg/g MS) na biomassa final das espécies cultivadas.	81
Figura 04 - Concentração de amido (mg/g MS) na biomassa final das espécies cultivadas.....	81
Figura 05 - Concentração de proteínas totais solúveis (mg/ g MS) na biomassa final das espécies cultivadas.....	82
Figura 06 - Concentração de clorofila ‘a’ e carotenoides totais, nos dias 05, 17 e 29 de cultivo.	83

CAPÍTULO 3 - Perfil lipídico de microalgas associadas a piscicultura para aplicações biotecnológicas

Figura 01 - Concentração de lipídeos totais (mg/ g de MS) de dez cepas de algas cultivadas em escala laboratorial.....	104
Figura 02 - Teor (% do total de AG) de ácidos graxos saturados (Sat), monoinsaturados (Mono), Di-insaturados (Dii), Tri-insaturados (Trii) e poli-insaturados (Polii).....	105

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 - Caracterização bioquímica e crescimento de dez espécies de microalgas, associadas a piscicultura, para potencial aplicação alimentar

Tabela 01. Parâmetros de crescimento das dez espécies de microalgas cultivadas..... 79

Tabela 02. Variação e produtividade (P) em biomassa (MS) dos cultivos durante 29 dias 80

CAPÍTULO 3 - Perfil lipídico de microalgas associadas a piscicultura para aplicações biotecnológicas

Tabela 01. Composição de ésteres metílicos de ácidos graxos (% do total de FAME) extraídos da biomassa microalgal cultivada em laboratório..... 106

ANEXO

Tabela 01 – Principais características dos artigos incluídos na meta-análise. 116

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	18
2 OBJETVO GERAL	24
3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO 1 – INFLUÊNCIA DE FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO PERFIL BIOQUÍMICO DE MICROALGAS CULTIVADAS: UMA META-ANÁLISE	31
CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E CRESCIMENTO DE DEZ ESPÉCIES DE MICROALGAS, ASSOCIADAS A PISCICULTURA, PARA POTENCIAL APLICAÇÃO ALIMENTAR.....	71
CAPÍTULO 3 - PERFIL LIPÍDICO DE MICROALGAS ASSOCIADAS A PISCICULTURA PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS.....	96
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	115
ANEXOS	116

1. INTRODUÇÃO GERAL

À medida que a população mundial aumenta, com projeções de atingir a marca de 9,8 bilhões de pessoas até 2050, questiona-se se o modelo atual de produção de alimentos será capaz de suprir a crescente demanda populacional (CAPORGNO e MATHYS, 2018), uma vez que, as proteínas de origem animal também dependem do fornecimento adequado de proteínas de origem vegetal com boa relação custo e benefício (FAO, 2020). Com esse intuito, esforços se concentram no melhoramento das culturas comumente utilizadas e na busca por novas fontes alimentares. Plantas como a soja, o feijão, ervilha, lentilha e o grão de bico são as leguminosas utilizadas como principais fontes de proteínas de origem vegetal para consumo na alimentação humana e animal (DE RON et al., 2017).

Estudos indicam que 690 milhões de pessoas no mundo, 8,9% da população mundial, tenham sido subnutridas em 2019 (FAO, 2020). O melhoramento genético de plantas, visando aumentar a produtividade e/ou a resistência das cultivares a infecções por patógenos, associado ao uso de agrotóxicos e técnicas para melhorar a colheita e evitar o desperdício, além de aumentar as áreas de cultivos, são algumas das medidas já adotadas que podem ajudar a reduzir a demanda atual por alimentos (FAO, 2018).

No entanto, algumas dessas medidas podem desencadear uma série de desordens ambientais alterando de forma significativa as condições climáticas de determinadas regiões e até mesmo do planeta, como por exemplo, a degradação de solos, aumento do desmatamento florestal, que levam a perdas na biodiversidade, contaminação de corpos hídricos e uso excessivo de água para irrigação (FAO, 2018). Brêda-Alves e colaboradores (2021) alertam para o aumento da ocorrência de florações de microalgas potencialmente tóxicas em corpos hídricos superficiais e subterrâneos, devido a lixiviação e ao escoamento horizontal de herbicidas amplamente utilizados em plantações agrícolas. Esses autores também comprovaram o efeito positivo do herbicida clethodim no estímulo da produção e liberação de cianotoxinas em cianobactérias cultivadas (BRÊDA-ALVES et al., 2021).

Dentro do panorama da alimentação, a piscicultura é o setor de criação animal voltado para a obtenção de proteína para a alimentação humana que mais cresce mundialmente, sendo responsável por um sexto da ingestão global de proteínas (SEBRAE, 2015; FAO, 2020). Os principais países produtores de peixes em sistemas de pisciculturas são a

China, representando 45% da produção mundial de pescado, seguido pela Índia, Vietnã e Indonésia. O Brasil aparece na décima segunda colocação do ranque mundial dos principais países aquícolas (SEBRAE, 2015; FAO, 2020), sendo os Ciprinídeos e a tilápia do Nilo os peixes mais cultivados e comercializados mundialmente (SEBRAE, 2015; BRABO et al., 2016; BALDISSEROTTO, 2009). A produção aquícola, no Brasil, representada em grande parte pela produção de tilápias, é bastante diversificada e conta também com empresas especializadas no cultivo de camarões, ostras, vieiras e mexilhões, sendo realizada em todas as regiões do país com potencial expansão nacional (FILHO et al., 2020). Sua manutenção depende da produtividade natural dentro dos tanques e da sua suplementação alimentar (SMITH et al., 2008).

Na cadeia produtiva da piscicultura o principal insumo é a ração, que pode chegar a até 80% do custo de produção quando comparada a outros insumos como alevinos, tanques-rede e medicamentos (SEBRAE, 2015). A ração usada também influencia no rendimento de carne dos animais, na conversão alimentar, sobrevivência e produtividade (SEBRAE, 2015). Entretanto, o uso indiscriminado de suplementação alimentar por meio de rações ricas em proteínas, nitrogênio e fósforo, juntamente com outros fatores, contribuem para a eutrofização dos tanques e para a proliferação excessiva de microalgas (SMITH et al., 2008). Portanto, o aumento da atividade deve vir acompanhado do desenvolvimento de técnicas sustentáveis e inovadoras nas áreas de alimentos para animais, seleção genética e biossegurança (FAO, 2020).

O número de estudos com cultivo de microalgas onde se avalia a composição química de diferentes cepas e espécies aumentou nas últimas décadas, estes estudos têm como finalidade buscar espécies de microalgas que se desenvolvam com facilidade e produzam quantidades suficientes de biomassa e compostos bioquímicos com alto valor agregado, quando cultivadas em larga escala. Os principais focos observados nesses trabalhos são a produção de lipídeos para utilização como matéria prima para biocombustíveis (BANERJEE et al., 2019; PARICHEHREH et al., 2019) e produção de proteínas, lipídeos e carboidratos voltados para a alimentação humana e animal (TIBBETTS et al., 2015; MILITÃO et al., 2019; HARINI et al., 2020; MORALES-SANCHEZ et al., 2020).

Microalgas podem crescer em áreas não aráveis, necessitam de menos água e área do que plantas como a soja, apresentam taxa de crescimento e produção de biomassa expressiva, não necessitam da aplicação de herbicidas e podem ser cultivadas em meios

alternativos (FAO, 2010; BECKER, 2013; SASSI et al., 2017). O emprego desses organismos como fonte alternativa de alimento para seres humanos e animais, pode contribuir para reduzir a demanda mundial por proteína, com vantagens em relação as plantas mais consumidas e cultivadas (CAPORGNO e MATHYS, 2018).

Ummalyma e colaboradores (2020), cultivando microalgas dulcícolas em meio de cultura a base de água do mar, observaram que a microalga *Chlorococcum* sp. foi capaz de produzir grandes quantidades de biomassa e lipídeos, mostrando-se uma cepa resistente a alterações no pH e salinidade, sendo seu perfil de ácidos graxos indicado para uso nas indústrias nutraceuticas e de biocombustíveis. Diversos outros estudos avaliam o potencial de crescimento, produção de biomassa e compostos bioquímicos de interesse para a alimentação humana e de ração animal, em meios de cultura alternativos de diversas origens como efluentes industriais e domésticos (ETHIER et al., 2011; ZHU et al., 2013; HALFHIDE et al., 2014; WANG et al., 2015; SAFAFAR et al., 2016).

Além disso, microalgas são fontes de diversos compostos benéficos a saúde como carboidratos, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados, minerais e vitaminas (TIBBETTS et al., 2015). Microalgas como suplementação nutricional é utilizado em conjunto com rações comuns para otimizar a alimentação de peixes, crustáceos, moluscos e até animais de fazenda, como galináceos e porcos. Cerca de 30% da biomassa microalgal produzida mundialmente é utilizada na alimentação animal, principalmente na aquicultura (BHALAMURUGAN et al., 2018; HUNTLEY et al., 2015; MOLINO et al., 2018). Microalgas são uma fonte rica em proteínas e com elevado valor nutricional (ASLAM et al., 2020). Espécies utilizadas na alimentação animal incluem os gêneros *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Haematococcus*, *Dunaliella* e *Nannochloropsis* (RAJVANSHI et al., 2019; BHALAMURUGAN et al., 2018).

Moheimani e colaboradores (2018), cultivaram as microalgas *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp., em consórcio, utilizando efluente de suinocultura digerido anaerobicamente como meio de cultura, observando que as microalgas podem crescer e produzir quantidades adequadas de proteínas e lipídeos, ricos em ácidos graxos da família omega3. Sendo sugerido seu uso na alimentação de porcos, com adição de aminoácidos essenciais, substituindo assim o farelo de soja comumente utilizado.

Microalgas possuem celulose na composição da sua parede celular e essa característica impacta de forma diferente animais ruminantes e monogástricos. Enquanto, para

animais ruminantes o consumo possa ser feito de forma direta, para animais monogástricos um pré-tratamento é necessário antes da biomassa algal ser incorporada na alimentação (MADEIRA et al., 2017). Nesse sentido novas pesquisas estão sendo realizadas com a finalidade de testar a digestibilidade “*in vitro*” da biomassa microalgal antes da sua incorporação na suplementação da ração animal.

Tibbetts e colaboradores (2017) avaliaram a digestibilidade “*in vitro*” da microalga marinha *Nannochloropsis granulata* para a alimentação do camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) e da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Esses autores concluíram que a digestibilidade da biomassa de *N. granulata* é consideravelmente alta, quando não tratada, para camarões e peixes, no entanto, ao submeter a biomassa a um pré-tratamento térmico, a capacidade de digestão das enzimas dos peixes aumenta. Em outro estudo, realizado por Tibbetts e colaboradores (2016), a digestibilidade “*in vitro*” da biomassa de quatro microalgas foram avaliadas antes e depois da extração de lipídeos. Esses autores observaram que, além de não reduzir a digestibilidade da matéria orgânica consumida pelos animais, a suplementação da alimentação com a biomassa de *Micractinium reisseri* após a extração de lipídeos, foi capaz de reduzir a produção de metano em cerca de 50%, indicando um potencial para a redução das emissões de metano entérico nesses animais, quando alimentados com microalgas.

A espécie *Haematococcus pluvialis* na fase vermelha (encistada) é utilizada, na forma de biomassa liofilizada ou extrato de astaxantina, como corante aditivo na alimentação de camarões, salmonídeos e carpas. *Dunaliella salina* e *Nannochloropsis* sp. também são comumente empregadas na suplementação desses animais devido aos altos índices de proteínas, carotenoides e ácidos graxos encontrados em sua biomassa (MOLINO et al., 2018), bem como *Nanofrustulum* sp e *Tetraselmis* sp (KIRON et al., 2012).

O cultivo de *Litopenaeus unnamei* (camarão) em conjunto a três microalgas, *Chlorella vulgaris*, *Chaetoceros muelleri* e *Platymonas helgolandica*, mostrou efeito positivo na performance de crescimento do camarão e na qualidade da água dos tanques (GE et al., 2016). O beta-caroteno extraído de algas do gênero *Dunaliella* é utilizado como corante e fonte de vitamina A (BHALAMURUGAN et al., 2018), co-culturas de camarões com *Dunaliella* previne infecções por patógenos, estimulando o sistema imune desses animais (ASLAM et al., 2020).

Na alimentação humana, o consumo de alimentos à base de microalgas pode trazer benefícios à saúde, além do alto teor nutricional, por esses microrganismos serem ricos em compostos com ações bioativas como antioxidantes, anti-hipertensivas e anticancerígenas (CAPORGNO e MATHYS, 2018). Microalgas do gênero *Chlorella* e *Arthrospira* acumulam proteínas, em quantidade e qualidade, adequadas para atender as exigências da dieta humana, ambas apresentando perfil composto por aminoácidos essenciais, similar a fontes convencionais de proteínas como ovo, soja e outras plantas terrestres (WELLS et al., 2017; CAPORGNO e MATHYS, 2018).

Outras microalgas, como as do gênero *Scenedesmus*, *Nannochloropsis* e *Dunaliella* podem apresentar perfil de aminoácidos altamente favorável ao consumo humano (KENT et al., 2015). Tibbetts e colaboradores (2015), cultivaram a microalga *Scenedesmus* sp. e avaliaram seu perfil proteico, antes e após a extração de lipídeos, e observaram que em ambos os casos, a biomassa é rica em leucina, arginina, fenilalanina, valina, treonina e lisina, em teores maiores do que o encontrado na soja. Esses aminoácidos, considerados essenciais, são obtidos através da dieta, uma vez que animais não são capazes de sintetizá-los endogenamente.

Esses microrganismos são ainda a primeira fonte dos ácidos graxo eicosapentaenóico (EPA) e docosahexanóico (DHA) para o zooplâncton, peixes e outros organismos aquáticos, aumentando de concentração na teia alimentar. Animais não são capazes de converter o ácido alfa-linolênico (ALA) em EPA e DHA em níveis consideráveis, sendo a absorção pela dieta importante para a manutenção da saúde (WELLS et al., 2017). EPA e DHA são ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, associados a prevenção ou melhoria de doenças cardiovasculares e renais (CAPORGNO e MATHYS, 2018). Ummalyma e colaboradores (2020), registraram teores expressivos desses ácidos graxos na microalga *Chlorococcum* sp., cultivada em meios de cultura a base de água marinha.

Graziani e colaboradores (2013), estudaram a capacidade antioxidante da microalga *Galdieria sulphuraria*, atingindo valores de 29,6 mmol/kg de massa seca quando em cultivo autotrófico, atribuindo esse resultado ao elevado teor de β -caroteno produzido por essa espécie. Outra característica da biomassa de *G. sulphuraria* é a presença de grande quantidade de fibras insolúveis que, segundo os autores, pode contribuir para o melhoramento da microflora intestinal humana. Carfagna e colaboradores (2015), comprovaram a atividade antioxidante de *G. sulphuraria*, através de sua suplementação na dieta de camundongos sob estresse oxidativo induzido por exercícios de longa

duração. Esses autores afirmam que a capacidade antioxidante da biomassa microalgal está associada ao seu conteúdo de glutatona e C-ficocianina, este último sendo capaz de proteger lipídeos do dano oxidativo.

Sabe-se que as condições de cultivo como luz, temperatura, concentração de nutrientes e salinidade, além da sua disponibilidade, qualidade e fonte, podem afetar o crescimento e acúmulo de biomassa, assim como a composição bioquímica das microalgas (OLIVEIRA et al., 2021).

Com isso, diversos estudos concentram seus esforços em investigar as melhores condições de cultivo, por meio do estresse, para a produção de biomassa com alto valor agregado. Akgul (2021), avaliou o efeito de diferentes concentrações de nitrogênio no crescimento, produção de biomassa e composição bioquímica de *Desmodesmus communis*, em meio com 75% de depleção de nitrogênio *D. communis* apresentou maiores taxas de crescimento, teor de lipídeos e de proteínas. Já Lu e colaboradores (2013), avaliaram o efeito da intensidade luminosa no crescimento e síntese de proteínas e lipídeos da microalga *Chlorella* sp., para essa cepa foi observado que 2000 lux é a intensidade luminosa de saturação, dentro do fotoperíodo de 12 horas de luz e escuro, acima desse valor as taxas fotossintéticas reduzem, assim como a concentração de lipídeos e proteínas. Peng e colaboradores (2020), cultivando *Nannochloropsis* sp., observaram que para maior produção de lipídeos as condições de pH 6, a 35 °C e com 5% de CO₂, são adequadas.

Diante de todas estas constatações, a presente pesquisa tem como objetivo avaliar a potencialidade de uso da biomassa microalgal, de espécies isoladas a partir de tanques de pisciculturas, para uso como suplemento na alimentação humana e animal. Além de contribuir, para o melhor entendimento dos efeitos das condições empregadas no cultivo na composição bioquímica da biomassa cultivada.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar a potencialidade da biomassa microalgal como suplemento na alimentação humana e animal, a partir de espécies isoladas de tanques de pisciculturas.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar, o efeito das principais condições de cultivo e como estas condicionam o perfil bioquímico das microalgas cultivadas, por meio da meta-análise;
- Identificar as microalgas mais frequentes em tanques de pisciculturas, que apresentem potencial de uso e inovação, em laboratório, bem como microalgas com efeitos deletérios, para conhecimento do seu ciclo de vida;
- Analisar o potencial biotecnológico dos teores de lipídeos, proteínas, carboidratos e pigmentos das espécies testadas;
- Avaliar a viabilidade da aplicação destas espécies como fonte alimentar humana e animal, com base em seus perfis bioquímicos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKGUL, F. Effects of nitrogen concentration on growth, biomass, and biochemical composition of *Desmodemus communis* (E. Hegewald) E. Hegewald. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 50, n. 1, p. 99-105, 2020.

ASLAM, A. et al. Biorefinery of Microalgae for Nonfuel Products. **Microalgae Cultivation For Biofuels Production**, [s.l.], p.197-209, 2020. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-817536-1.00013-8>.

BALDISSEROTTO, B. Freshwater fish culture in Rio Grande do Sul State: actual situation, problems and future perspectives. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p.291-299, 2009.

BANERJEE, S; SINGH, H; DAS, D; ATTA, A. Process Optimization for Enhanced Biodiesel Production by *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 with Concomitant CO₂ Sequestration. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 58, n. 35, p. 15760-15771, 2019.

BECKER, W. Microalgae for human and animal nutrition. In: A. RICHMOND and Q. HU, eds. **Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology**. 2nd ed. United Kingdom: John Wiley & Sons, pp. 461-503, 2013. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118567166.ch25>.

BHALAMURUGAN, G.L.; VALERIE, O.; MARK, L. Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review. **Environmental Engineering Research**, [s.l.], v. 23, n. 3, p.229-241, 2018. Korean Society of Environmental Engineering. <http://dx.doi.org/10.4491/eer.2017.220>.

BRABO, M.F. et al. Current scenario of fish production in the world, Brazil and Pará State: emphasis on aquaculture. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, Pará, v. 4, n. 2, p.50-58, 2016.

BRÊDA-ALVES, F; FERNANDES, VO, CORDEIRO-ARAÚJO, MK; CHIA, M. The combined effect of clethodim (herbicide) and nitrogen variation on allelopathic interactions between *Microcystis aeruginosa* and *Raphidiopsis raciborskii*. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 28, p.11528–11539, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11367-x>

BRÊDA-ALVES, F; FERNANDES, VO; CHIA, MA. Understanding the environmental roles of herbicides on cyanobacteria, cyanotoxins, and cyano HABs. **Aquat. Ecol.**, v. 55, p.347–361, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10452-021-09849-2>

CAPORGNO, MP; MATHYS, A. Trends in Microalgae Incorporation Into Innovative Food Products With Potential Health Benefits. **Frontiers in Nutrition**, Spain, v. 5, n. 58, p. 1-10, 2018.

CARFAGNA, GS; NAPOLITANO, G; BARONE, D; PINTO, G; POLLIO, A; VENDITTI, P. Dietary Supplementation with the Microalga *Galdieria sulphuraria* (Rhodophyta) Reduces Prolonged Exercise-Induced Oxidative Stress in Rat Tissues. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 1, p. 1-14, 2015.

DE RON, AM; SPARVOLI, F; PUEYO, JJ; BAZILE, D. Editorial: Protein Crops: Food and Feed for the future. **Frontiers in Plant Science**, Spain, v. 8, n. 105, p. 7-10, 2017.

ETHIER, S; WOISARD, K; VAUGHAN, D; WEN, Z. Continuous culture of the microalgae *Schizochytrium limacinum* on biodiesel-derived crude glycerol for producing docosahexaenoic acid. **Bioresource Technology**, USA, v. 102, n. 1, p. 88-93, 2011.

FAO. Review Paper, Algae-based Biofuels: Applications and Co-products. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010.

FAO. The future of food and agriculture – Alternative pathways to 2050. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 224 pp., 2018.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture: Sustainability in action. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

FILHO, MXP; FILHO, JBSF; JUNIOR, MAGP. Impactos socioeconômicos da aquicultura no Brasil: análise a partir da matriz de contabilidade social. **Rev. Econ.**, NE, Fortaleza, v. 51, n. 4, p. 159-176, 2020.

GRAZIANI, G; SCHIAVO, S; NICOLAI, MA; BUONO, S; FOGLIANO, V; PINTO, G; POLLIO, A. Microalgae as human food: chemical and nutritional characteristics of the thermo-acidophilic microalga *Galdieria sulphuraria*. **Food & Function**, [s. l.], v. 4, p. 144-152, 2013.

HALFHIDE, T; AKERSTROM, A; LEKANG, OI; GISLEROD, HR; ERGAS, SJ. Production of algal biomass, chlorophyll, starch and lipids using aquaculture wastewater under axenic and non-axenic conditions. **Algal Research**, USA, v. 6, n. 1, p. 152-159, 2014.

HARINI, AB; RAJKUMAR, R; TAKRIFF, MS. Enhanced production of lipid as biofuel feedstock from the marine diatom *Nitzschia* sp. by optimizing cultural conditions. **Bioresources**, Índia, v. 15, ed. 4, p. 7532-7550, 2020.

HUNTLEY, M.E. et al. Demonstrated large-scale production of marine microalgae for fuels and feed. **Algal Research**, [s.l.], v. 10, p.249-265, 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.016>.

KENT, M; WELLADSEN, HM; MANGOTT, A; LI, Y. Nutritional Evaluation of Australian Microalgae as Potential Human Health Supplements. **PLOSone**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 1-14, 2015.

KIRON, V.; PHROMKUNTHONG, W.; ARCHIBALD, I.; SCHEEMAKER, G. Marine microalgae from biorefinery as a potential feed protein source for Atlantic salmon, common carp and whiteleg shrimp. **Aquaculture Nutrition**, [s.l.], v. 18, n. 5, p.521-531, 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00923.x>.

LU, B; LI, M; QI, L. The Effect of Light on the Growth and Product accumulation of *Chlorella*. **Advanced Materials Research**, China, v. 724-725, p. 323-329, 2013.

MADEIRA, MS; CARDOSO, C; LOPES, PA; COELHO, D; AFONSO, C; BANDARRA, NM; PRATES, JAM. Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review. **Livestock Science**, Portugal, v. 205, p. 111-121, 2017.

MILITÃO, F P; FERNANDES, V O; BASTOS, K V; MARTINS, A P; COLEPICOLO, P; MACHADO, L P. Nutritional value changes in response to temperature, microalgae mono and mixed cultures. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Vitória, ES, v. 31, ed. 17, p. 1-11, 2019

MOHEIMANI, NR; VADIVELLOO, A; AYRE, JM; PLUSKE, JR. Nutritional profile and in vitro digestibility of microalgae grown in anaerobically digested piggery effluent. **Algal Research**, Australia, v. 35, p. 362-369, 2018.

MOLINO, A.; LOVINE, A.; CASELLA, P.; MEHARYA, S.; CHIANESE, S.; CERBONE, A.; RIMAURO, J.; MUSMARRA, D. Microalgae Characterization for Consolidated and New Application in Human Food, Animal Feed and Nutraceuticals. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s.l.], v. 15, n. 11, p.2436-2456, 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph15112436>.

MORALES-SANCHEZ, D; SCHULZE, PSC; KIRON, V; WIJFFELS, RH. Production of carbohydrates, lipids and polyunsaturated fatty acids (PUFA) by the polar marine microalga *Chlamydomonas malina* RCC2488. **Algal Research**, Netherlands, v. 50, p. 1-10, 2020.

OLIVEIRA, CYB; OLIVEIRA, CCL; PRASAD, R; ONG, HC; ARAUJO, ES; SHABNAM, N; GÁLVEZ, AO. A multidisciplinary review of *Tetrademus obliquus*: a microalga suitable for large-scale biomass production and emerging environmental applications. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, ed. 3, p. 1594-1618, 2021.

PARICHEHREH, R; GHESHLAGHI, R; MAHDAVI, MA; ELKAMEL, A. Optimization of lipid production in *Chlorella vulgaris* for biodiesel production using

flux balance analysis. **Biochemical Engineering Journal**, Iran, v. 141, p. 131-145, 2019.

PENG, X; MENG, F; WANG, Y; YI, X; CUI, H. Effect of pH, Temperature, and CO₂ Concentration on Growth and Lipid Accumulation of *Nannochloropsis* sp. MASCC 11. **J. Ocean Univ. China**, China, v. 19, n. 5, p. 1183-1192, 2013.

RAJVANSHI, M.; SAGARAM, U.S.; SUBHASH G.V.; KUMAR, G.R.K.; GOVINDACHARY, S.; DASGUPTA, S. Biomolecules from Microalgae for Commercial Applications. **Sustainable Downstream Processing of Microalgae For Industrial Application**, [s.l.], p.3-38, 2019. CRC Press. <http://dx.doi.org/10.1201/9780429027970-1>.

SAFAFAR, H; HASS, MZ; MØLLER, P; HOLDT, SL; JACOBSEN, C. High-EPA Biomass from *Nannochloropsis salina* Cultivated in a Flat-Panel Photo-Bioreactor on a Process Water-Enriched Growth Medium. **Mar Drugs**., v. 14, n. 8, p.144, 2016. doi: 10.3390/md14080144.

SASSI, PGP; CALIXTO, CD; DA SILVA SANTANA, JK; SASSI, R; SASSI, CFC; ABRAHÃO, R. Cultivation of freshwater microalgae in biodiesel wash water. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 24, p.18332–18340, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9351-4>

SEBRAE. **Aquicultura no Brasil: Série estudos mercadológicos**. 2015. Disponível em: <[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/\\$File/5403.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/$File/5403.pdf)>. Acesso em: 30 dez. 2019.

SMITH, JL; BOYER, GL; ZIMBA, PV. A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: Impacts and management alternatives in aquaculture. **Aquaculture**, [s.l.], v. 280, n. 1-4, p.5-20, 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.007>.

TIBBETTS, SM; MACPHERSON, T; MCGINN, PJ; FREDEEN, AH. In vitro digestion of microalgal biomass from freshwater species isolated in Alberta, Canada for

monogastric and ruminant animal feed applications. **Algal Research**, Canada, v. 19, p. 324-332, 2016.

TIBBETTS, SM; MELANSON, RJ; PARK, KC; BANSKOTA, AH; STEFANOVA, R; MCGINN, PJ. Nutritional Evaluation of Whole and Lipid-Extracted Biomass of the Microalga *Scenedesmus* sp. AMDD Isolated in Saskatchewan, Canada for Animal Feeds: Proximate, Amino Acid, Fatty Acid, Carotenoid and Elemental Composition. **Current Biotechnology**, v. 4, p.530-546, 2015.

TIBBETTS, SM; YASUMARU, F; LEMOS, D. In vitro prediction of digestible protein content of marine microalgae (*Nannochloropsis granulata*) meals for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Algal Research**, Canada, v. 21, p. 76-80, 2017.

UMMALYMA, SB; SUKUMARAN, RK; PANDEY, A. Evaluation of Freshwater Microalgal Isolates for Growth and Oil Production in Seawater Medium. **Waste Biomass Valor**, v. 11, p.223–230, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0393-8>

WANG, Y; GUO, W; HO, SH; YEN, HW; LO, YC; CHENG, CL; REN, N; CHANG, JS. Cultivation of *Chlorella vulgaris* JSC-6 with swine wastewater for simultaneous nutrient/COD removal and carbohydrate production. **Bioresource Technology**, China, v. 198, p. 619-625, 2015.

WELLS, ML; POTIN, P; CRAIGIE, JS; RAVEN, JA; MERCHANT, SS; HELLIWELL, KE; SMITH, AG; CAMIRE, ME; BRAWLEY, SH. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. **J. Appl. Phycol.**, [s. l.], v. 29, p. 949–982, 2017.

ZHU, L; WANG, Z; SHU, Q; TAKALA, J; HILTUNEN, E; FENG, P; YUAN, Z. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. **Water Res.**, v. 1, n. 47, p.4294-302, 2013. doi: 10.1016/j.watres.2013.05.004

CAPÍTULO 1 – Influência de fatores bióticos e abióticos no perfil bioquímico de microalgas cultivadas: Uma meta-análise

Autores: Frederico Pacheco Militão^{1*} • Levi Pompermayer Machado² • Stéfano Zorzal de Almeida³ • Valéria de Oliveira Fernandes¹

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Do Estado de São Paulo, Departamento de Engenharia de Pesca, CEP 11900-000, Registro, SP, Brasil.

(3) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Oceanografia e Ecologia, Programa de Pós-graduação em biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

*Autor para correspondência: fredericomilitao@gmail.com

Artigo a ser submetido para a revista ‘‘Algal research’’. Guide lines: <https://www.elsevier.com/journals/algal-research/2211-9264?generatepdf=true>

RESUMO

As condições de cultivo como luz, temperatura, concentração de nutrientes e salinidade, além da sua disponibilidade, qualidade e fonte, podem afetar o crescimento e acúmulo de biomassa, assim como a composição bioquímica das microalgas. Por esse motivo, ao cultivar microalgas para finalidades específicas, tais como a alimentação, torna-se essencial o conhecimento das condições a serem empregadas para obtenção do melhor rendimento e de compostos de interesse. Portanto, o presente estudo, através da meta-análise, buscou investigar o efeito das principais condições de cultivo e como estas condicionam o perfil bioquímico das microalgas cultivadas, levando em consideração o tipo morfológico de cada espécie. Uma busca sistemática utilizando um conjunto de palavras chaves foi realizada no banco de dados “*Web of Science*”. As palavras chaves utilizadas foram: “algae cultivation AND (protein OR lipid OR carbohydrate)”. Foram encontrados 1937 potenciais estudos, compreendidos entre os anos de 1945 e 2021. Porém, baseado em critérios de inclusão e exclusão de trabalhos, foram considerados 71 artigos selecionados para a meta-análise de acordo com o objetivo desta pesquisa. O aumento do nitrogênio e da salinidade afetam positivamente o acúmulo de proteínas, enquanto que intensidades luminosas elevadas favorecem a síntese de carboidratos e lipídios. Por outro lado, a redução na concentração de nitrogênio e fósforo promovem a síntese de lipídios e a redução da salinidade e da temperatura levam ao incremento do teor de carboidratos da biomassa microalgal. A meta-análise evidenciou o efeito das principais condições físico-químicas empregadas no cultivo de microalgas que podem alterar de forma significativa a síntese e acúmulo dos principais compostos bioquímicos de interesse comercial, mostrando que a manipulação desses parâmetros, associado ao tipo morfológico da microalga cultivada, é uma forma efetiva para obtenção de biomassa com maior valor agregado, nutricional e comercial. Facilitando a tomada de decisão sobre as melhores condições para a implementação de culturas de microalgas com foco específico em determinados compostos bioquímicos.

Palavras-chave: microalgas, bioprodutos, alimentação, proteínas, lipídeos, carboidratos.

ABSTRACT

Cultivation conditions such as light, temperature, nutrient concentration and salinity, in addition to their availability, quality and source, can affect the growth and accumulation of biomass, as well as the biochemical composition of microalgae. For this reason, in the production of microalgae for specific purposes such as food, it is essential to know which conditions to be used to obtain better yields and compounds of interest. Therefore, the present study, through meta-analysis, sought to investigate the effect of the main cultivation conditions and how they affect the cultivated microalgae's biochemical profile, considering the morphological type of each species. A systematic search using a set of keywords was performed in the "Web of Science" database. The keywords used were: "algae cultivation AND (protein OR lipid OR carbohydrate)". A total of 1937 potential studies were found, between the years 1945 and 2021. In the end, a total of 71 articles were selected for the current meta-analysis. The increase in nitrogen and salinity positively affects the accumulation of proteins, while high light intensities favor the synthesis of carbohydrates and lipids. The reduction in the phosphorus and nitrogen concentration promotes the synthesis of lipids and the reduction of salinity and temperature leads to an increase in the carbohydrate content of the microalgal biomass. The present meta-analysis puts in evidence the effect of the main physicochemical conditions used in the cultivation of microalgae that can significantly alter the synthesis and accumulation of main biochemical compounds of commercial interest, showing that the manipulation of these parameters, associated with the morphological type of the microalgae cultivated, is an effective way to obtain biomass with greater quality and higher nutritional and commercial. Facilitating the decision making on the best conditions for the implementation of microalgae cultures with a specific focus on certain biochemical compounds.

Keywords: microalgae, bioproducts, food, proteins, lipids, carbohydrates.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, plantas como a soja, o feijão, ervilha, lentilha e o grão de bico são as leguminosas utilizadas como principais fontes de proteínas para consumo na alimentação humana e animal (DE RON et al., 2017). Estima-se que a produção atual de alimentos deve dobrar de tamanho para atender as demandas alimentares de toda a população do planeta, que pode chegar a 9,8 bilhões de pessoas em 2050 (CAPORGNO e MATHYS, 2018). Além disso, estudos indicam que 690 milhões de pessoas no mundo, 8,9% da população mundial, tenham sido subnutridas em 2019 e que o número de pessoas afetadas pela fome no mundo continua aumentando (FAO, 2020).

Aumentar a área de cultivo, aplicação de técnicas para melhorar a produtividade e a colheita, são medidas que podem ajudar a alcançar a crescente demanda por alimento. No entanto, essas medidas vão de encontro a uma série de questões ambientais que podem afetar as condições climáticas do planeta, como a degradação de terras, aumento do desmatamento florestal, perdas na biodiversidade, contaminação de corpos hídricos e uso excessivo de água para irrigação (FAO, 2018).

A utilização de microalgas como fonte alternativa de alimento, tanto para alimentação humana quanto para ração animal, pode contribuir para reduzir a demanda global por proteína, com certas vantagens em relação as plantas comumente consumidas e cultivadas (CAPORGNO e MATHYS, 2018). Microalgas podem crescer em áreas não aráveis, necessitam de menos água e área do que plantas como a soja, apresentam taxa de crescimento e produção de biomassa elevada, não necessitam da aplicação de herbicidas e podem ser cultivadas com fontes de nutrientes alternativos e sustentáveis (FAO, 2010; BECKER, 2013; SASSI et al., 2017) Além disso, microalgas são fontes de diversos compostos benéficos a saúde como carboidratos, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados, minerais e vitaminas (TIBBETTS et al., 2015).

Nas últimas décadas o número de estudos com cultivo de microalgas nos quais se avalia a composição química de diferentes cepas e espécies aumentou exponencialmente. Estes estudos têm como objetivo principal buscar espécies de microalgas que quando cultivadas se desenvolvam com facilidade e produzam quantidades suficientes de biomassa e compostos bioquímicos com alto valor agregado. São dois os focos principais observados nesses trabalhos; produção de lipídeos para utilização como matéria prima para biocombustíveis (BANERJEE et al., 2019; PARICHEHREH et al.,

2019) e produção de proteínas, lipídeos e carboidratos voltados para a alimentação humana e animal (TIBBETTS et al., 2015; MILITÃO et al., 2019; HARINI et al., 2020; MORALES-SANCHEZ et al., 2020).

Sabe-se que as condições de cultivo como luz, temperatura, concentração de nutrientes e salinidade, além da sua disponibilidade, qualidade e fonte, podem afetar o crescimento e acúmulo de biomassa, assim como a composição bioquímica das microalgas (OLIVEIRA et al., 2021). Por esse motivo, torna-se essencial, ao cultivar microalgas para finalidades específicas como a alimentação, o conhecimento de quais condições empregar para se obter melhor rendimento e compostos de interesse. Portanto, o presente estudo, através da meta-análise, buscou investigar o efeito das principais condições de cultivo e como estas condicionam o perfil bioquímico das microalgas cultivadas, levando em consideração o tipo morfológico de cada espécie.

2 MATERIAIS E METÓDOS

2.1 Estratégia de busca

A busca sistemática utilizando um conjunto de palavras chaves, em inglês para maior abrangência, foi realizada no banco de dados “Web of Science” no mês de setembro de 2021. As palavras chaves utilizadas foram: “algae cultivation AND (protein OR lipid OR carbohydrate)”. Os artigos encontrados na busca foram então selecionados.

2.2 Critérios de seleção

Todos os artigos encontrados na busca passaram por seleção baseada em critérios, de inclusão ou exclusão, previamente estabelecidos, e destes, 71 artigos foram considerados. Os critérios de inclusão foram: (1) Experimentos randomizados e controlados; (2) presença de pelo menos uma análise alvo (quantificação de proteínas, lipídeos ou carboidratos); (3) utilização de cepas unialgais e não tóxicas; (4) cultivo fototrófico; e (5) presença de pelo menos um tratamento controle. Os critérios de exclusão foram: (1) Artigo não relacionado com o tema principal e/ou artigo de revisão bibliográfica; (2) não apresenta alguma análise alvo; (3) experimentos com cultivos mistos; (4) utilização de meio de cultura alternativo (efluentes industriais, domésticos e outras fontes); (5) utilização de cepas de microalgas geneticamente modificadas; e (6) não testou nenhuma variável foco ou teve sobreposição de variáveis.

2.3 Extração dos dados

Foram extraídas as seguintes informações dos artigos elegíveis: (1) espécies utilizadas; (2) tipo morfológico das espécies (biótico); (3) tratamento empregado (estresse abiótico); (4) análise alvo (concentração de proteína, lipídeo e carboidrato).

2.4 Análises estatísticas

O tamanho do efeito de cada estudo foi calculado a partir da média, da maior diferença entre os níveis em cada estudo, e desvio padrão (DP) dos resultados como diferença média ponderada (SMD) com 95% de intervalo de confiança (CI) (BORENSTEIN et al., 2009). Para o cálculo dos tamanhos de efeito as seguintes fórmulas foram utilizadas: $D = X1 - X2$, sendo D a diferença entre os níveis e X1 e X2 a média do tratamento de menor e maior nível, respectivamente. Assumindo que os desvios padrão não são os mesmos, a variância de D (VD) foi então calculada, $VD = (S1/ n1) + (S2/ n2)$, sendo S1 e S2 o desvio padrão de X1 e X2, e n1 e n2 são o tamanho das amostras em cada nível X1 e X2, respectivamente. Por fim, a raiz quadrada de VD foi calculada (BORENSTEIN et al., 2009). O cálculo do tamanho de efeito seguiu sempre na direção do menor para o maior nível observado. A meta-análise foi conduzida utilizando o programa R (R CORE TEAM, 2021) com o pacote *metafor* (VIETCHBAUER, 2010).

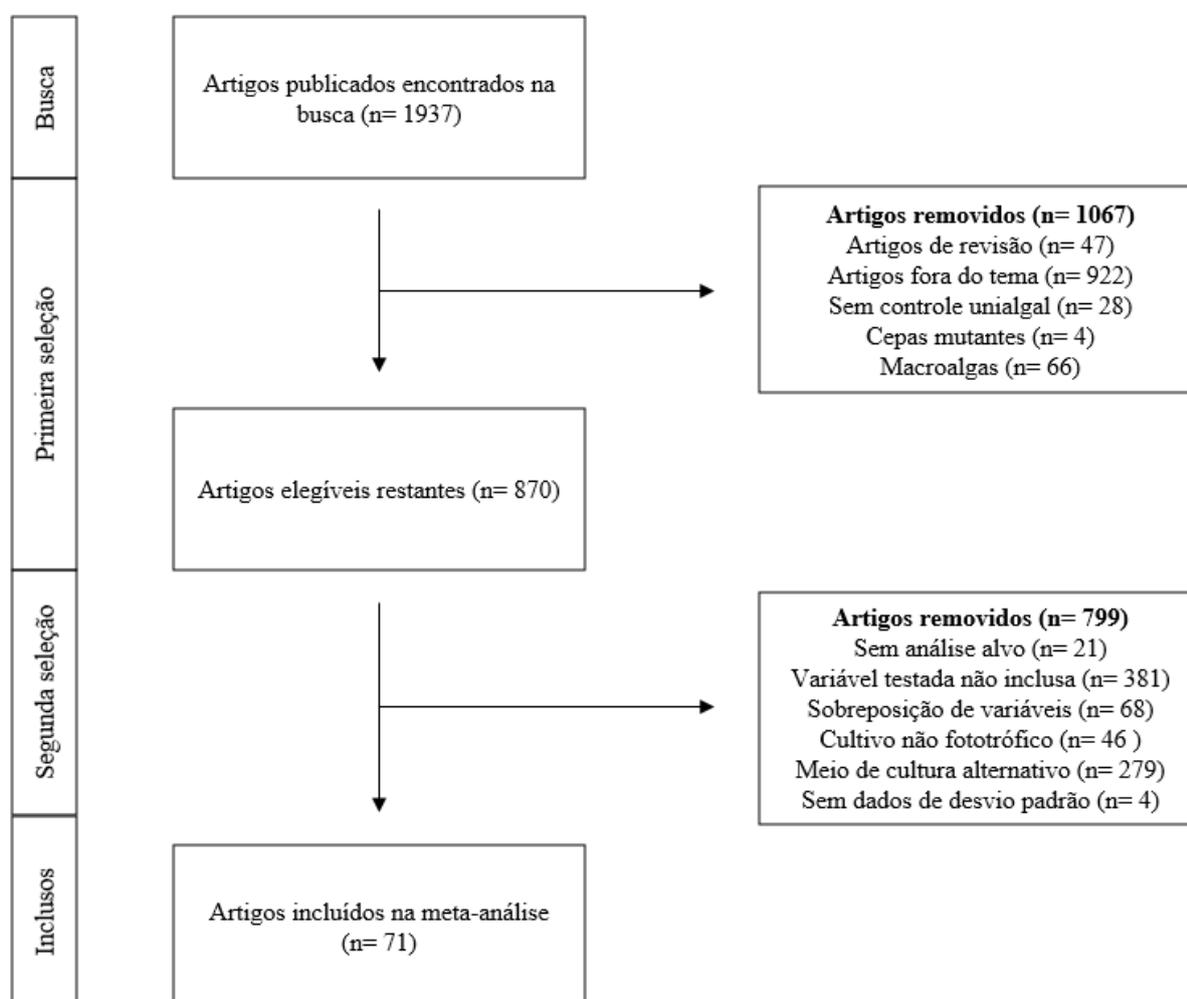
A heterogeneidade dos estudos foi testada usando o teste Q de Cochran. Quando $p < 0,01$, as diferenças entre os estudos são consideradas significativas. Na meta-análise, a significância é comumente determinada pelo CI acima de 95%. Um I^2 de 50% e uma estatística Q de $p < 0,01$ são evidências para sustentar a presença de heterogeneidade. Análises de subgrupos foram realizadas com base nos tipos morfológicos classificados como unicelular, flagelado, filamentosa, colonial cenóbio e colonial tetrasporal. Nos trabalhos onde o DP não estava descrito em tabelas, os dados foram obtidos com o auxílio do software WebPlotDigitizer ver. 4.5 (ROHATGI, 2021).

3 RESULTADOS

3.1 Resultados da pesquisa e características dos estudos

Um diagrama de fluxo que mostra o procedimento de seleção dos estudos é apresentado na Figura 01. A partir das buscas na base de dados “Web of Science”, foram encontrados 1937 potenciais estudos, compreendidos entre os anos de 1945 e 2021. No final, um total de 71 artigos foram selecionados para a meta-análise desta pesquisa. As características gerais dos estudos incluídos na meta-análise estão resumidas na Tabela 01 dos dados complementares. Estes incluíram estudos realizados entre os anos de 2002 a 2021, com cepas de microalgas de 9 Classes e 7 Divisões taxonômicas. Os tipos morfológicos registrados foram unicelular, unicelular flagelada, filamentosa, colonial tetrasporal e colonial cenóbio. Experimentos com diferentes níveis de luminosidade, temperatura, nitrogênio, fósforo e salinidade foram realizados pelos estudos incluídos nesta meta-análise.

Figura 01 – Fluxograma da busca na base de dados e artigos incluídos na presente meta-análise.

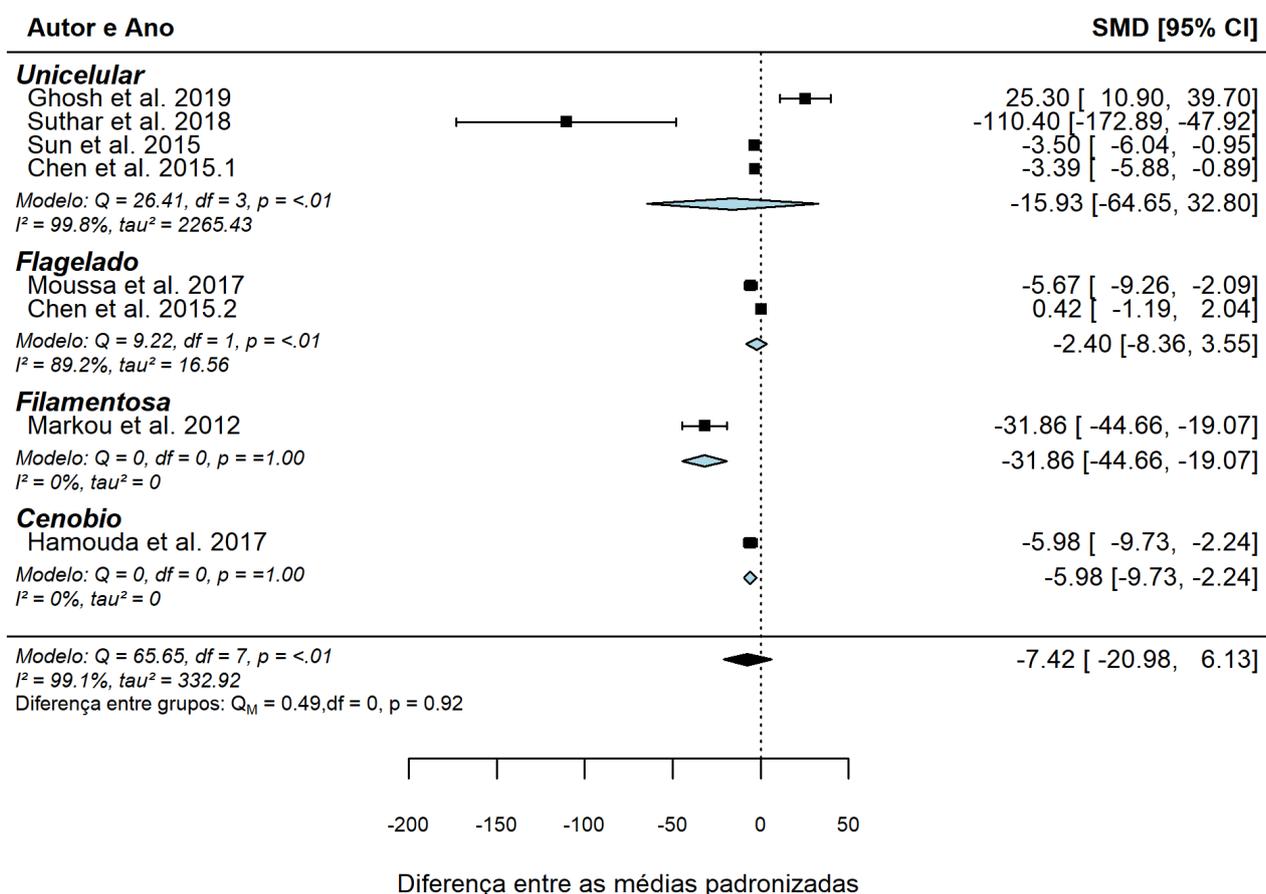


3.2 Efeito do fósforo e influência dos tipos morfológicos nos compostos bioquímicos

3.2.1 Fósforo e carboidratos totais

Para fósforo e carboidratos totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 7 estudos (Figura 02). Os resultados mostram que o fósforo não tem influência significativa no acúmulo de carboidratos nas algas, independentemente do tipo morfológico avaliado (SMD: -7,42; 95% CI: -20,98 a 6,13; $p = < 0,01$; $I^2 = 99,1\%$). Para os subgrupos filamentosa e cenóbio, os valores de I^2 foram 0%, indicando baixa de heterogeneidade nos dados analisados.

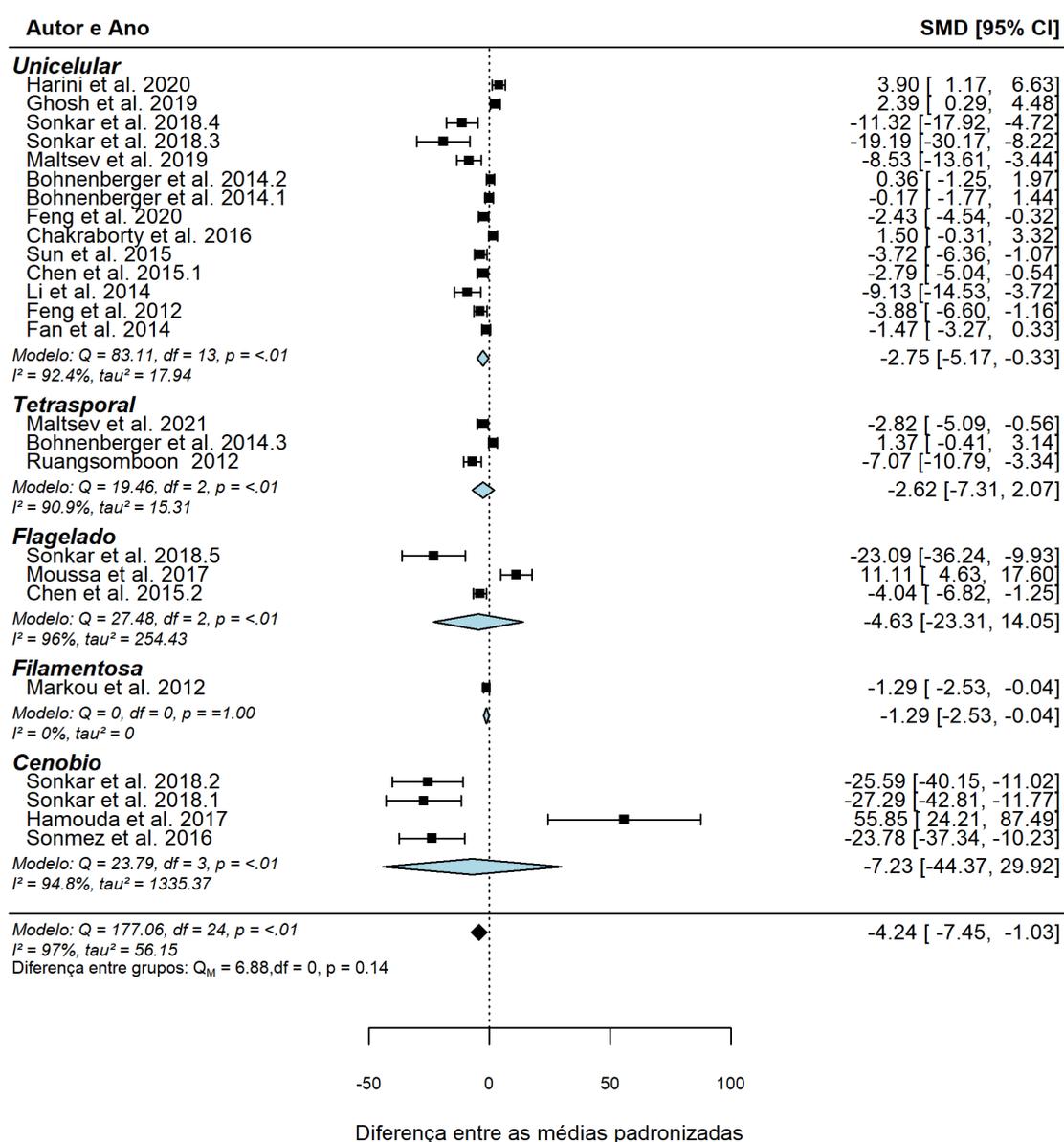
Figura 02 – “Forest plot” do efeito do fósforo no acúmulo de carboidrato nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.2.2 Fósforo e lipídios totais

Para fósforo (P) e lipídios totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 18 estudos (Figura 03). Os resultados mostram que a redução da concentração de P nos cultivos tem influência significativa no acúmulo de lipídios nas microalgas (SMD: -4,24; 95% CI: -7,45 a -1,03; $p = 0,14$; $I^2 = 97\%$). Com exceção de trabalhos como os realizados por Moussa e colaboradores (2017) (SMD: 11,11; 95% CI: 4,63 a 17,6) e Hamouda e colaboradores (2017) (SMD: 55,85; 95% CI: 24,21 a 87,49), com algas flageladas e colonial cenóbio, respectivamente. Quando analisados de forma isolada, a meta-análise indicou efeito inversamente proporcional entre a concentração de P e o acúmulo de lipídeos em microalgas unicelulares (SMD: -2,75; 95% CI: -5,17 a -0,33; $p < 0,01$; $I^2 = 92,4\%$).

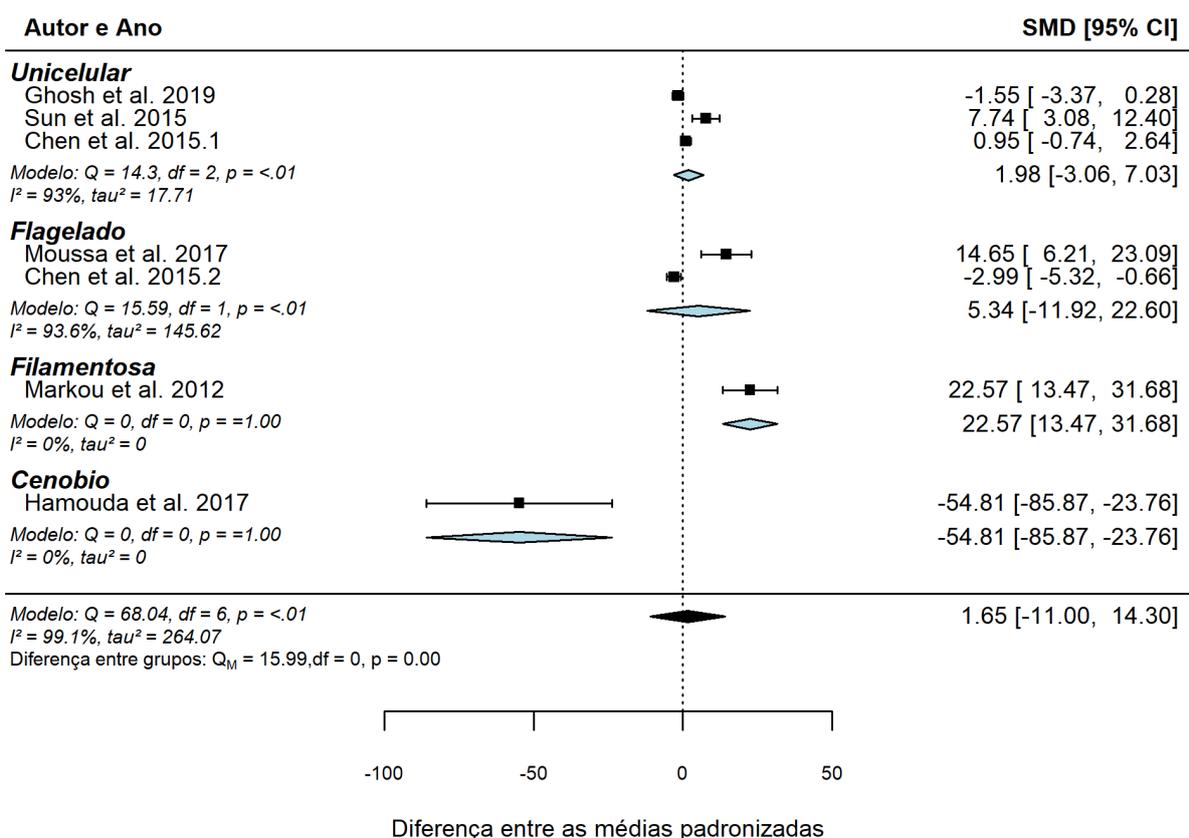
Figura 03 – “Forest plot” do efeito do fósforo no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.2.3 Fósforo e proteínas totais

Para fósforo e proteínas totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 6 estudos (Figura 04). Os resultados mostram que o fósforo não tem influência significativa no acúmulo de proteínas nas microalgas (SMD: 1,65; 95% CI: -11 a 14,3; $p = < 0,01$; $I^2 = 99,1\%$). Embora, ao avaliar os diferentes tipos morfológicos, os estudos aparentem indicar um efeito positivo do fósforo no acúmulo de proteínas em microalgas filamentosas, tal efeito é irrelevante e não pode ser considerado devido ao baixo valor de I^2 , indicando que a variação observada pode não ser genuína (SMD: 22,57; 95% CI: 13,47 a 31,68; $p = < 0,01$; $I^2 = 0\%$). O mesmo é observado para a depleção de P em microalgas coloniais cenóbio (SMD: -54,81; 95% CI: -85,87 a -23,76; $p = < 0,01$; $I^2 = 0\%$).

Figura 04 – “Forest plot” do efeito do fósforo no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.

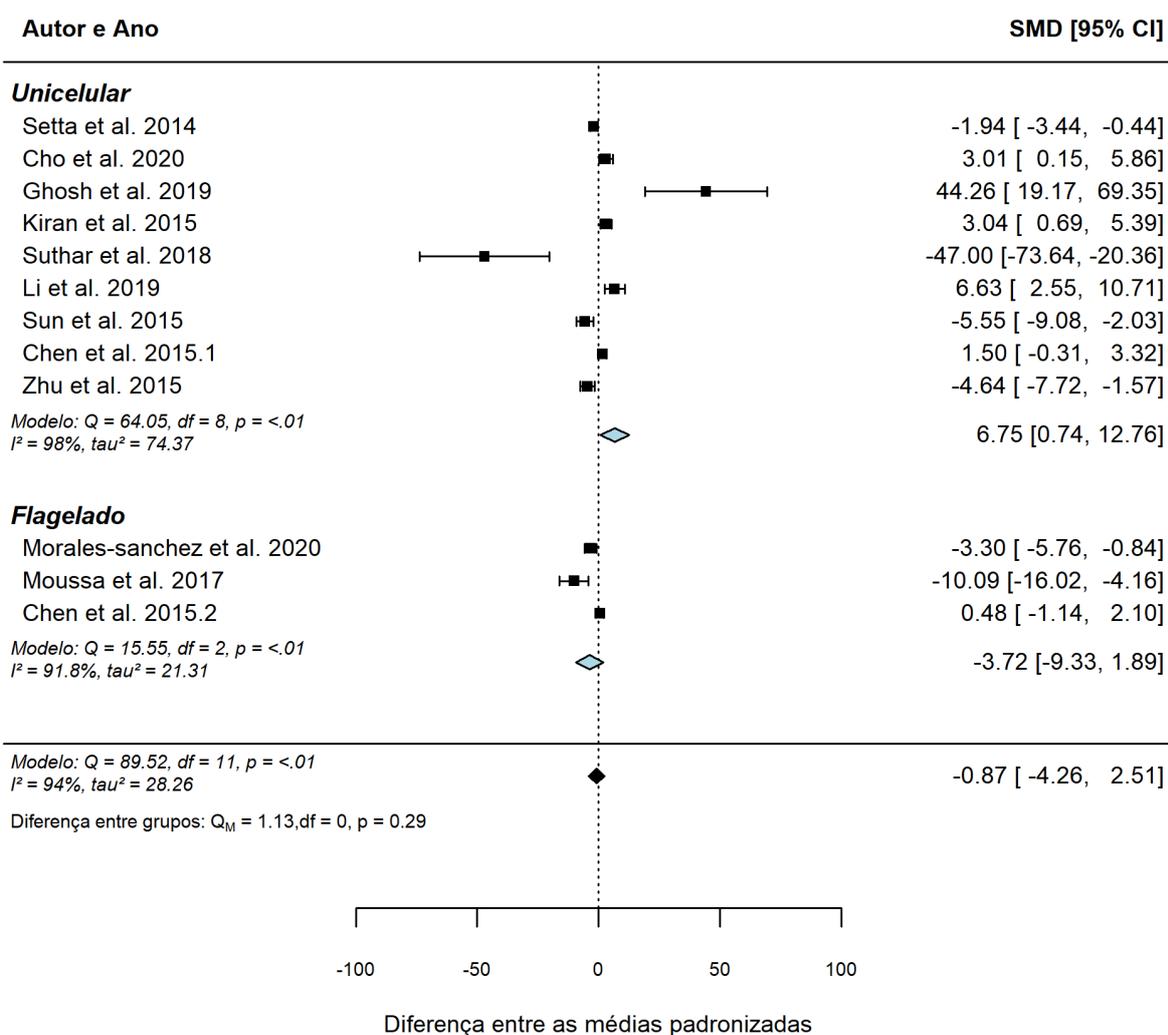


3.3 Efeito do N e influência dos tipos morfológicos nos compostos bioquímicos

3.3.1 Nitrogênio e carboidratos totais

Para nitrogênio (N) e carboidratos totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 11 estudos (Figura 05). Os resultados mostram que a concentração de N não tem influência significativa direta no acúmulo de carboidratos nas microalgas (SMD: -0,87; 95% CI: -4,26 a 2,51; $p = <0,01$; $I^2 = 94\%$). No entanto, ao analisar os tipos morfológicos, verificamos que para microalgas unicelulares há relação direta entre o aumento na concentração desse nutriente com o teor de carboidratos (SMD: 6,75; 95% CI: 0,74 a 12,76; $p = <0,01$; $I^2 = 98\%$).

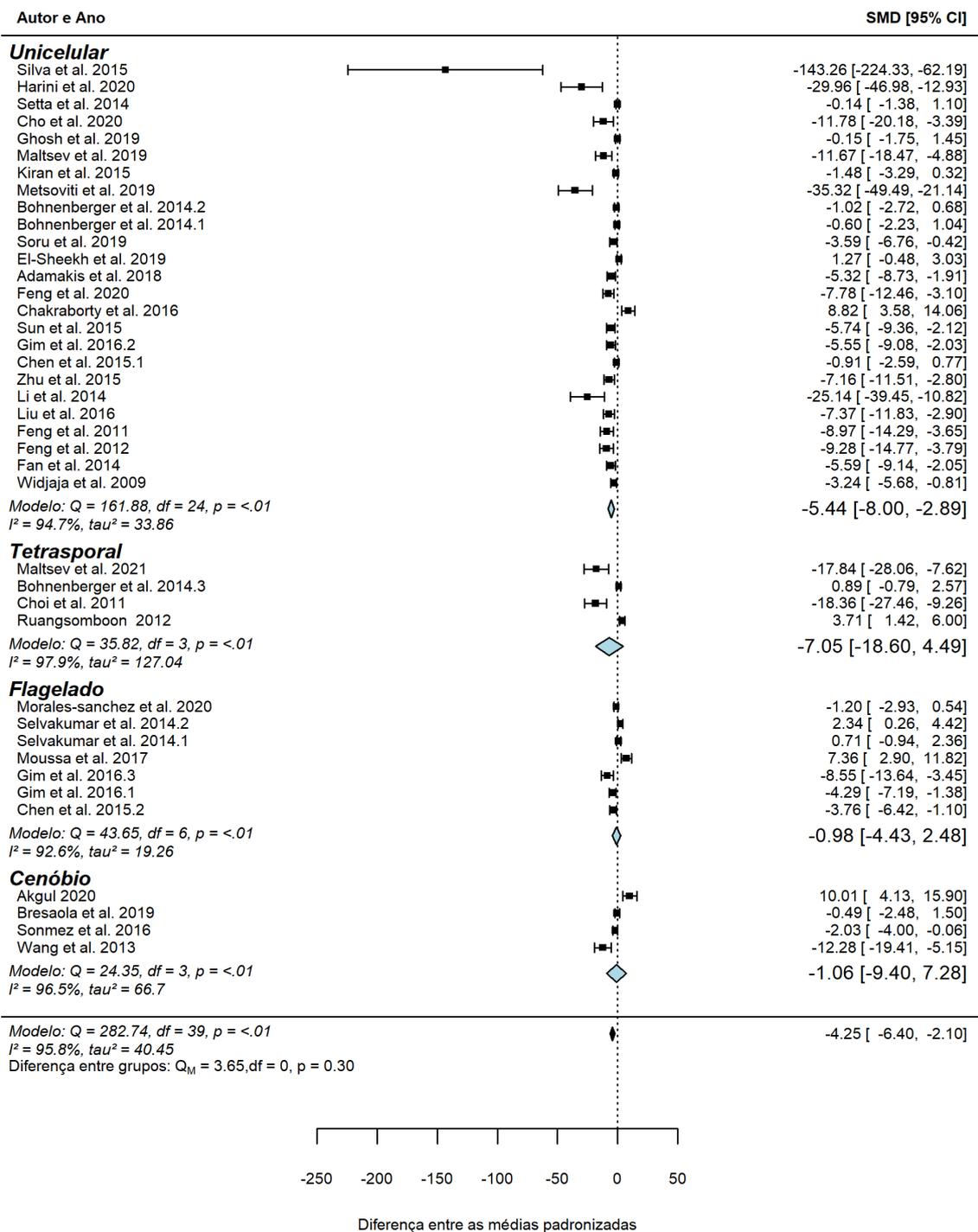
Figura 05 – “Forest plot” do efeito do nitrogênio no acúmulo de carboidratos nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.3.2 Nitrogênio e lipídios totais

Para N e lipídios totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 35 estudos (Figura 06). Os resultados mostram que a depleção de N favorece o acúmulo de lipídeos nas microalgas (SMD: -4,25; 95% CI: -6,4 a -2,1; $p = < 0,01$; $I^2 = 95,8\%$), sobretudo nas unicelulares (SMD: -5,44; 95% CI: -8 a -2,89; $p = < 0,01$; $I^2 = 94,7\%$).

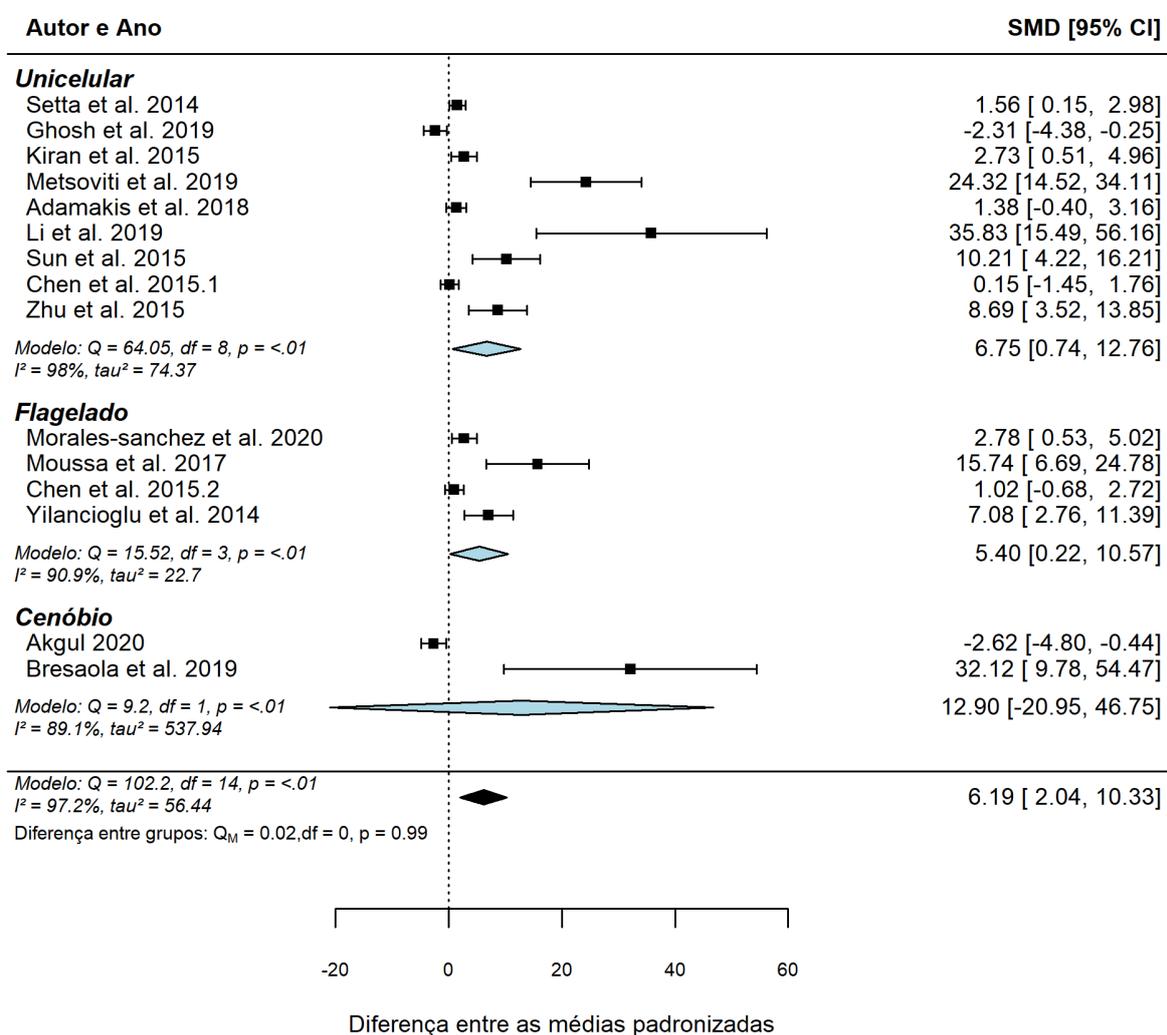
Figura 06 – “Forest plot” do efeito do nitrogênio no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.3.3 Nitrogênio e proteínas totais

Para N e proteínas totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 14 estudos (Figura 07). Os resultados mostram que o aumento na concentração de N no meio de cultura influencia significativamente o acúmulo de proteínas nas microalgas, independentemente do tipo morfológico avaliado (SMD: 6,19; 95% CI: 2,04 a 10,33; $p = <0,01$; $I^2 = 97,2\%$).

Figura 07 – “Forest plot” do efeito do nitrogênio no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.

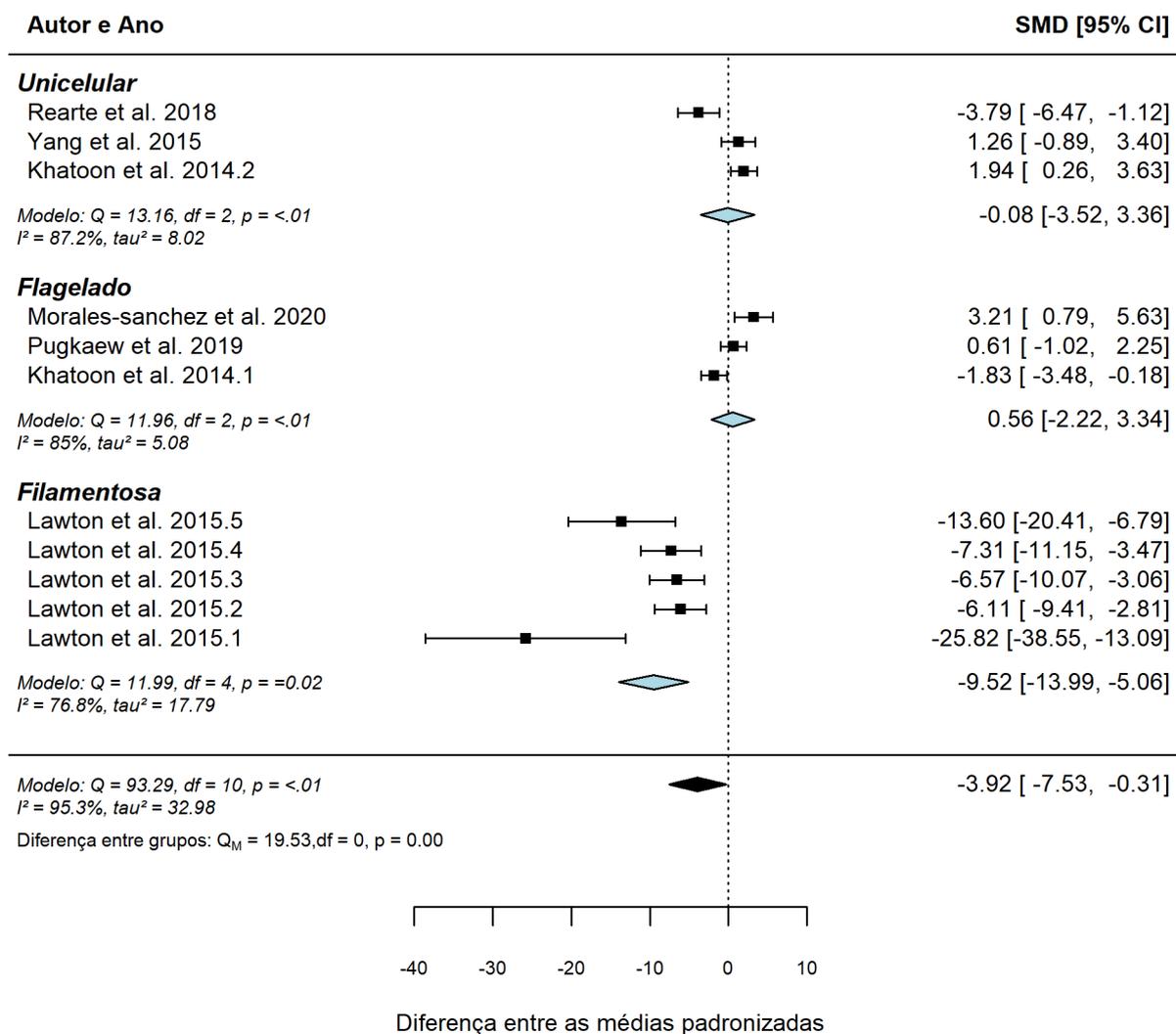


3.4 Efeito da salinidade e influência dos tipos morfológicos nos compostos bioquímicos

3.4.1 Salinidade e carboidratos totais

Para salinidade e carboidratos totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 6 estudos (Figura 08). Os resultados mostram que a redução da salinidade favorece o acúmulo desse composto (SMD: -3,92; 95% CI: -7,53 a -0,31; $p = < 0,01$; $I^2 = 95,3\%$), principalmente em microalgas filamentosas (SMD: -9,52; 95% CI: -13,99 a -5,06; $p = 0,02$; $I^2 = 76,8\%$).

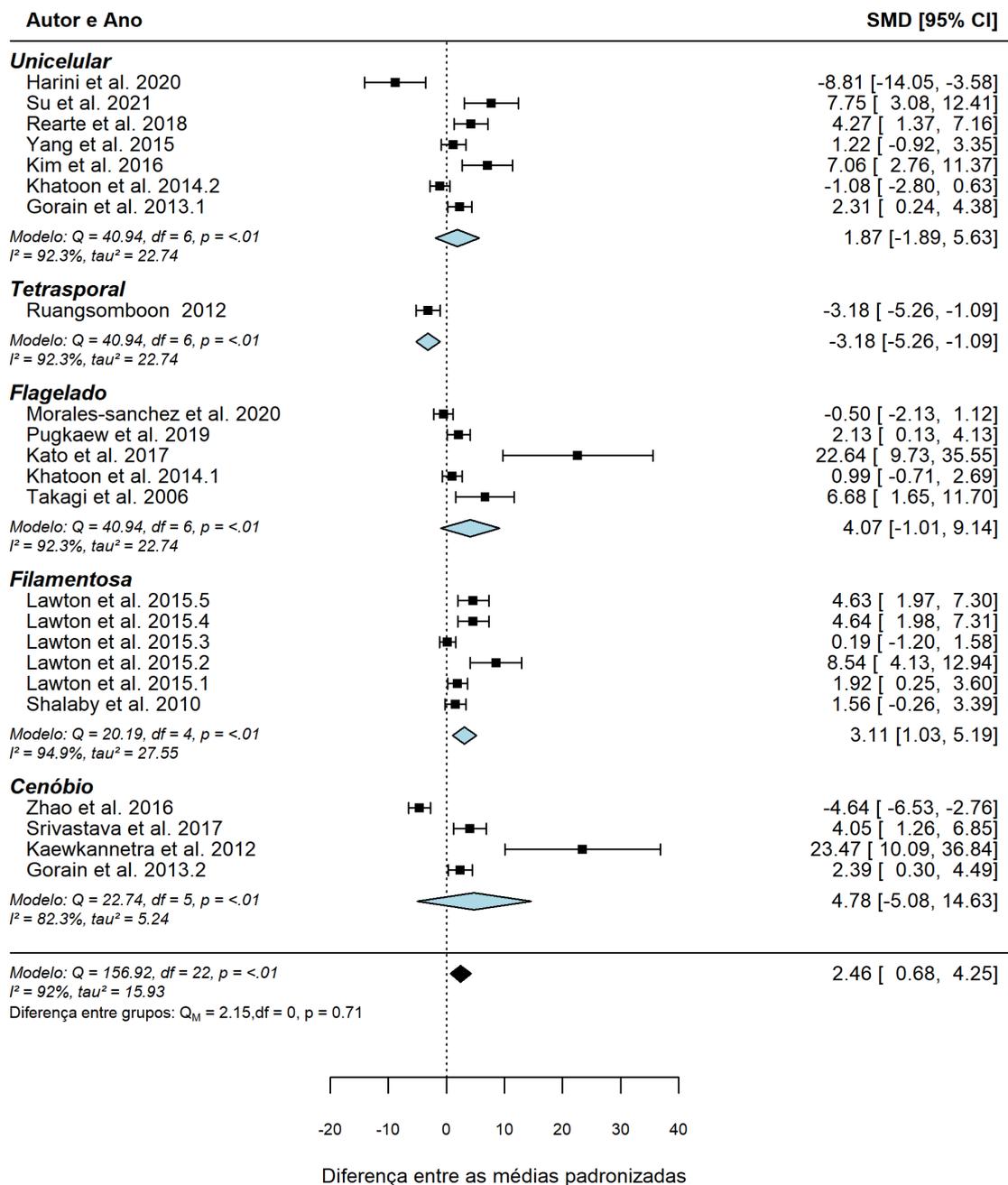
Figura 08 – “Forest plot” do efeito da salinidade no acúmulo de carboidratos nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.4.2 Salinidade e lipídios totais

Para salinidade e lipídios totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 17 estudos (Figura 09). Os resultados mostram que o aumento da salinidade influencia significativamente o acúmulo de lipídios nas microalgas (SMD: 2,46; 95% CI: 0,68 a 4,25; $p = < 0,01$; $I^2 = 92\%$), principalmente naquelas com tipo morfológico filamentososo (SMD: 3,11; 95% CI: 1,03 a 5,19; $p = < 0,01$; $I^2 = 94,9\%$). O efeito oposto é registrado para microalgas coloniais tetrasporais, onde a redução da salinidade favorece o acúmulo de lipídios (SMD: -3,18; 95% CI: -5,26 a -1,09; $p = < 0,01$; $I^2 = 92,3\%$).

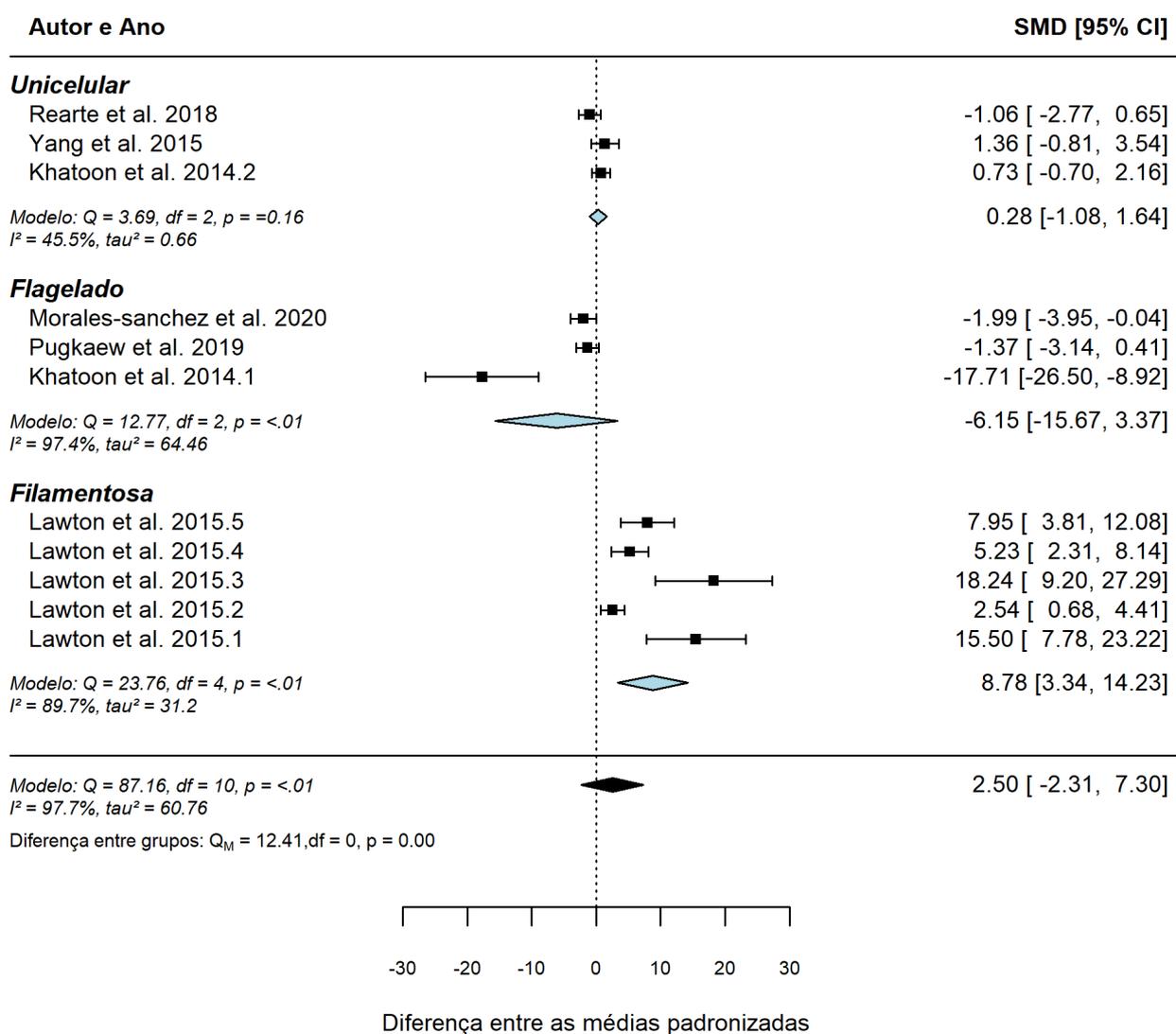
Figura 09 – “Forest plot” do efeito da salinidade no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.4.3 Salinidade e proteínas totais

Para salinidade e proteínas totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 6 estudos (Figura 10). Os resultados mostram que o aumento da salinidade não influencia significativamente o acúmulo de proteínas nas microalgas de modo geral (SMD: 2,5; 95% CI: -2,31 a 7,3; $p = < 0,01$; $I^2 = 97,7\%$). No entanto, para microalgas filamentosas, o aumento da salinidade favorece o acúmulo de proteínas (SMD: 8,78; 95% CI: 3,34 a 14,23; $p = < 0,01$; $I^2 = 89,7\%$).

Figura 10 – “Forest plot” do efeito da salinidade no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.

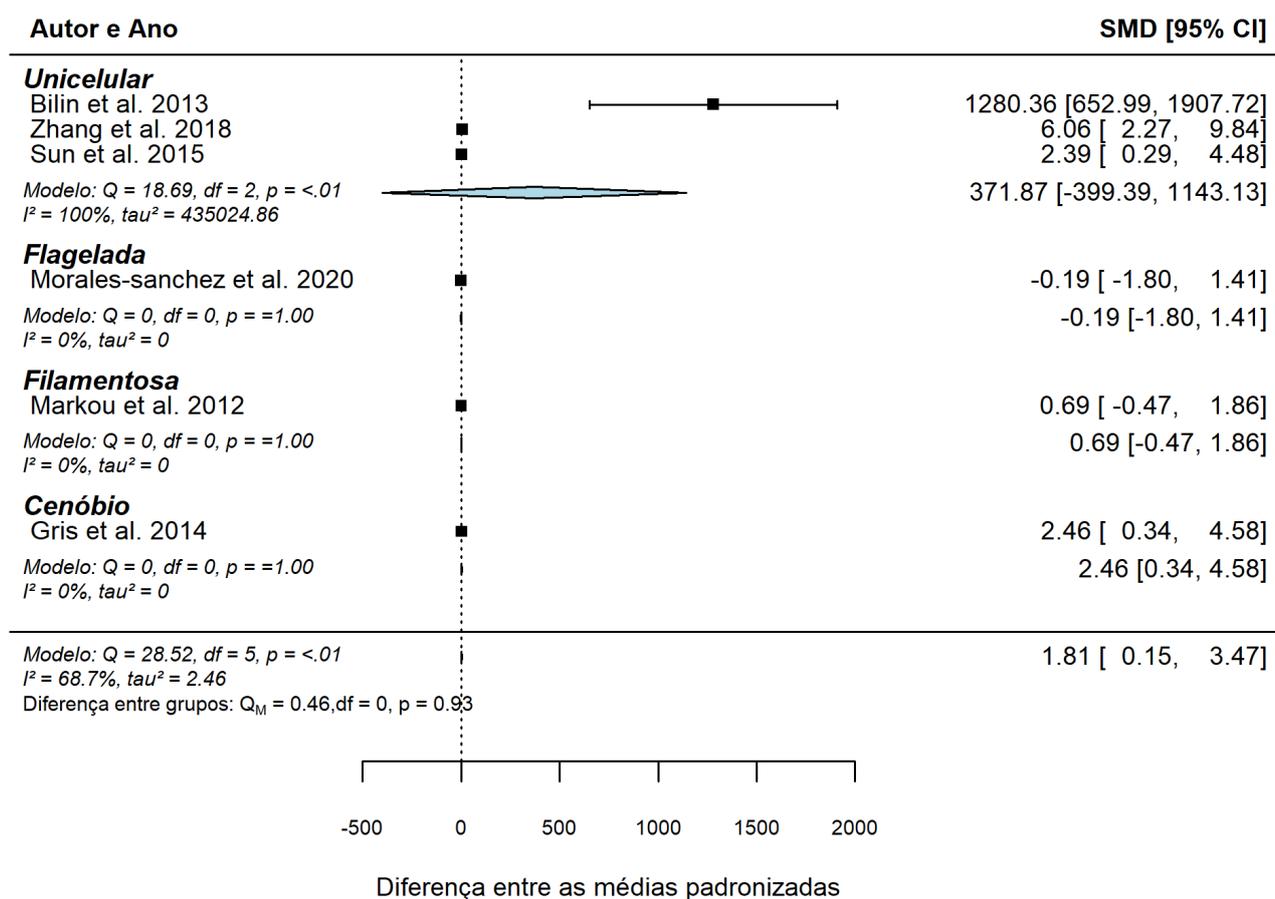


3.5 Efeito da luminosidade e influência dos tipos morfológicos nos compostos bioquímicos

3.5.1 Luz e carboidratos totais

Para luminosidade e carboidratos totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 6 estudos (Figura 11). Os resultados mostram que o aumento da intensidade luminosa influencia o acúmulo de carboidratos nas microalgas, independentemente do tipo morfológico (SMD: 1,81; 95% CI: 0,15 a 3,47; $p = <0,01$; $I^2 = 68,7\%$). Para microalgas flageladas, filamentosas e coloniais cenóbio temos $I^2 = 0\%$, indicando que a variância observada pode não ser genuína devido à baixa amostragem encontrada.

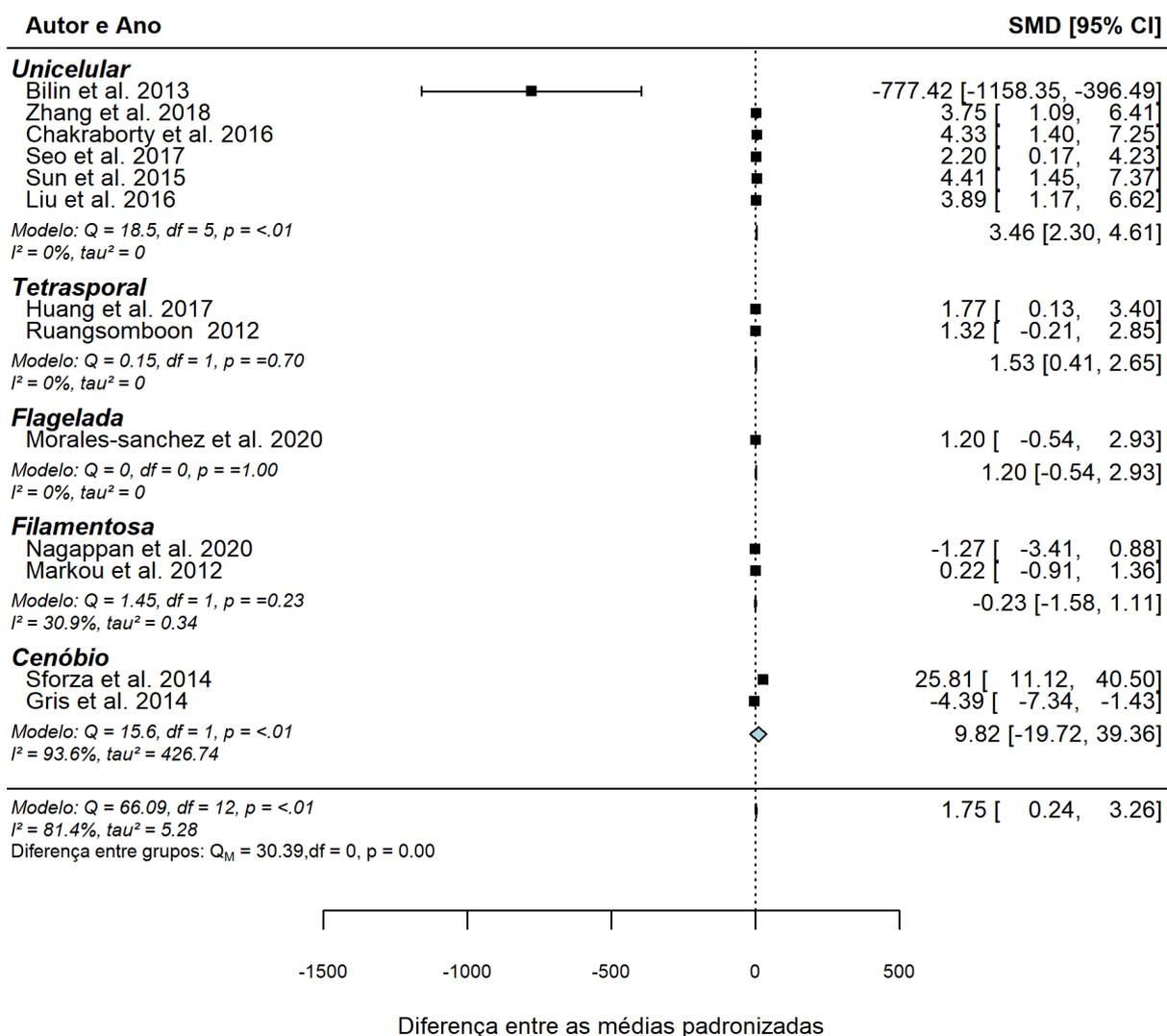
Figura 11 – “Forest plot” do efeito da luminosidade no acúmulo de carboidratos nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.5.2 Luz e lipídios totais

Para luminosidade e lipídios totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 13 estudos (Figura 12). Os resultados mostram que a o aumento da intensidade luminosa influencia significativamente o acúmulo de lipídios nas microalgas, independentemente do tipo morfológico (SMD: 1,75; 95% CI: 0, 24 a 3, 26; $p = <0,01$; $I^2 = 81,4\%$). Quando analisados separadamente, para microalgas dos subgrupos unicelulares, flageladas e coloniais tetrasporal temos $I^2 = 0\%$, indicando que a variância observada pode não ser genuína devido à baixa amostragem encontrada.

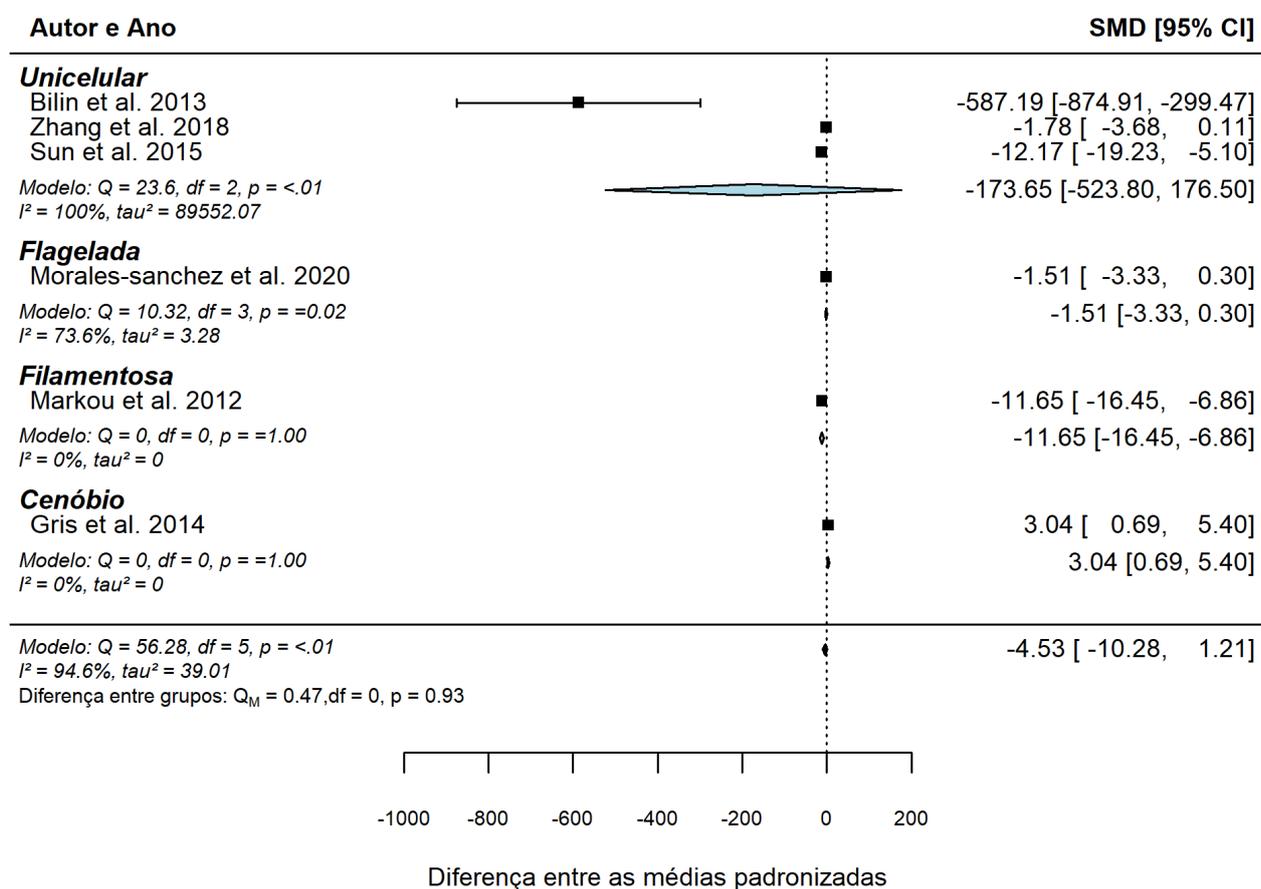
Figura 12 – “Forest plot” do efeito da luminosidade no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.5.3 Luz e proteínas totais

Para luminosidade e proteínas totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 6 estudos (Figura 13). Os resultados mostram que a intensidade luminosa não tem influência significativa no acúmulo de proteínas nas microalgas, independentemente do tipo morfológico (SMD: -4,53; 95% CI: -10,28 a 1,21; $p = <0,01$; $I^2 = 94,6\%$). Quando analisados separadamente, para microalgas flageladas, filamentosas e coloniais cenóbios temos $I^2 = 0\%$, indicando que a variância observada pode não ser genuína devido à baixa amostragem encontrada.

Figura 13 – “Forest plot” do efeito da luminosidade no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.

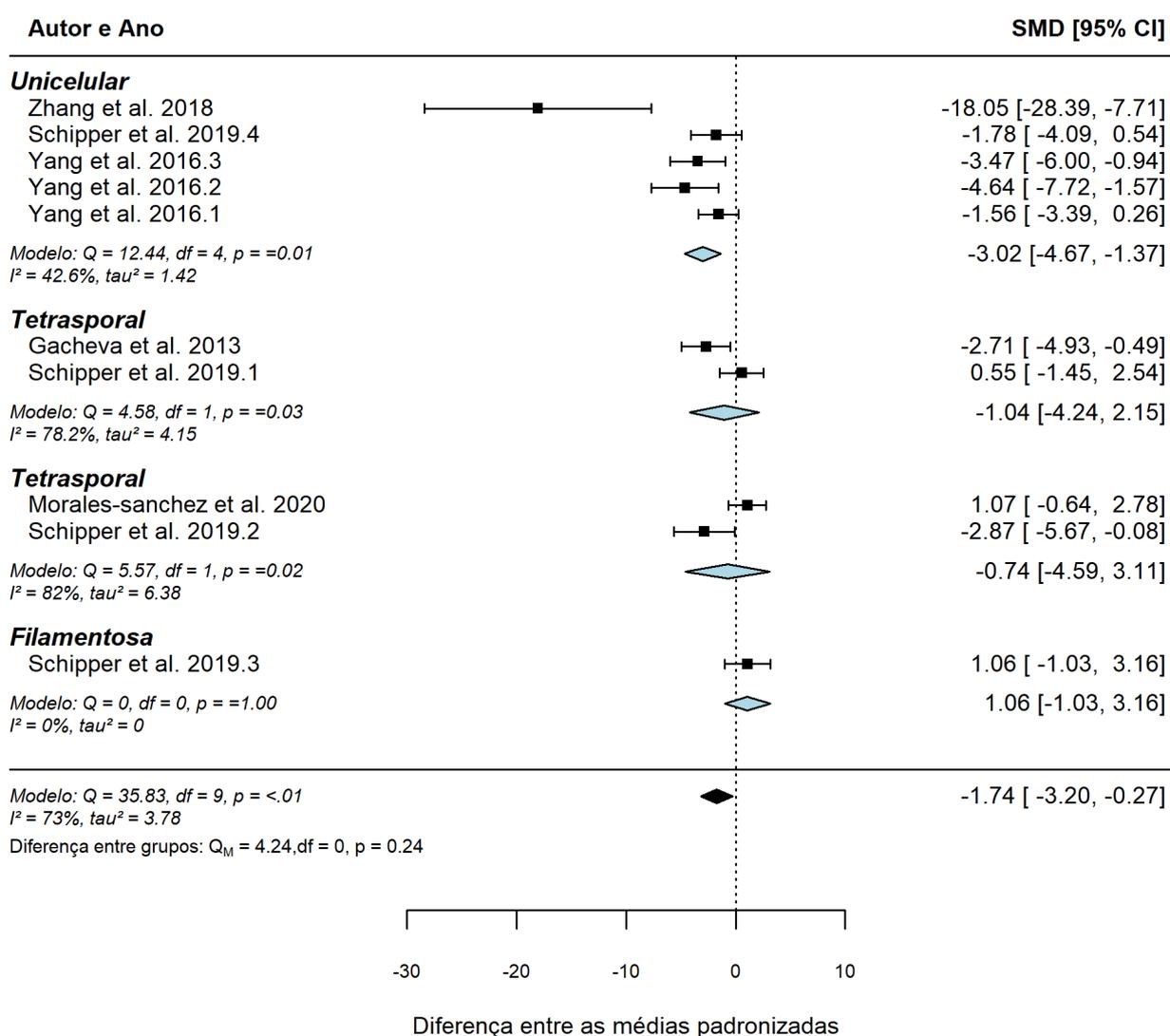


3.6 Efeito da temperatura e influência dos tipos morfológicos nos compostos bioquímicos

3.6.1 Temperatura e carboidratos totais

Para temperatura e carboidratos totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 6 estudos (Figura 14). Os resultados mostram que a redução da temperatura influencia a síntese de carboidratos nas microalgas, independentemente do tipo morfológico (SMD: -1,74; 95% CI: -3,20 a -0,27; $p = <0,01$; $I^2 = 73\%$). Para microalgas filamentosas temos $I^2 = 0\%$, indicando que a variância observada pode não ser genuína devido à baixa amostragem encontrada.

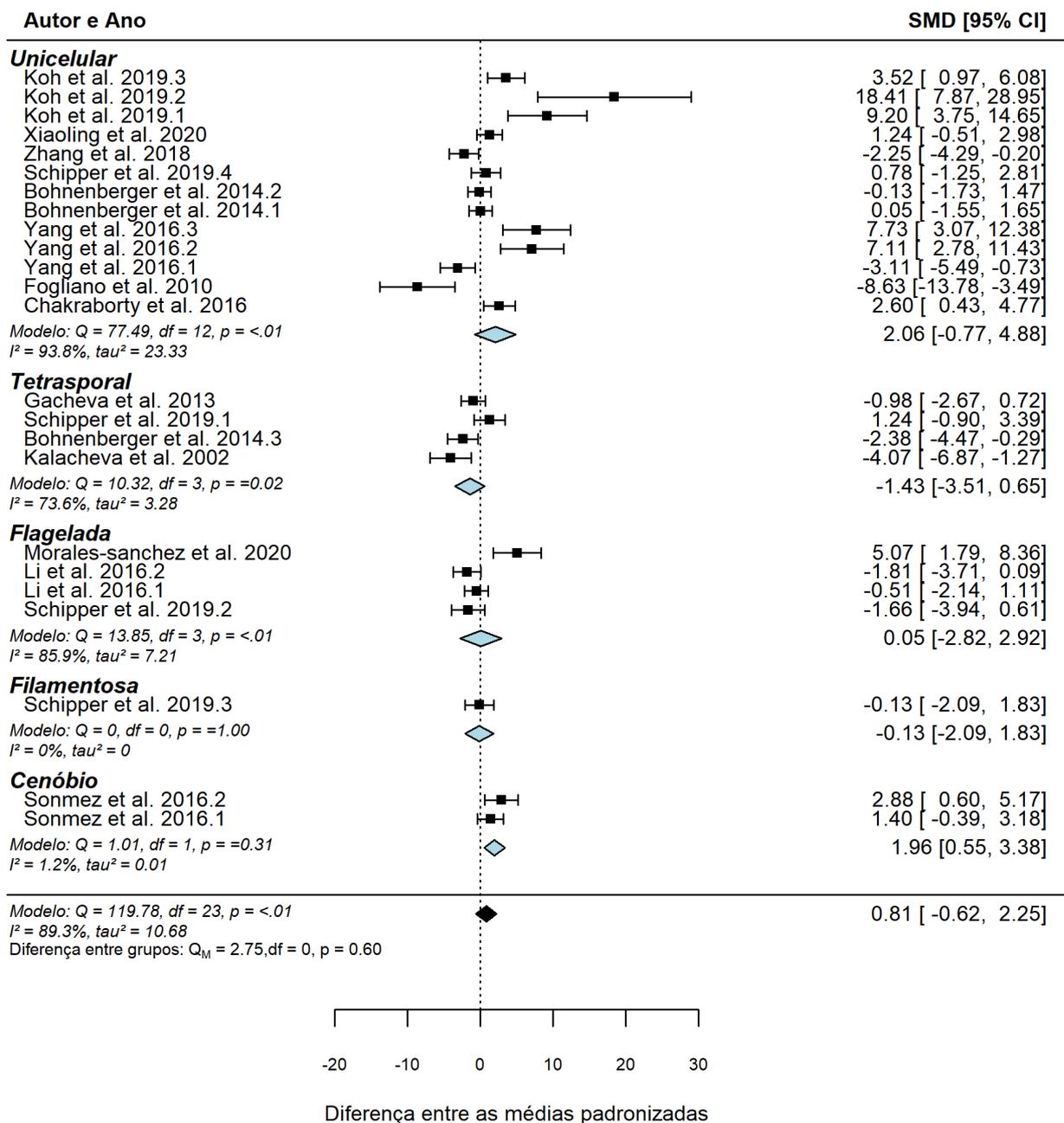
Figura 14 – “Forest plot” do efeito da temperatura no acúmulo de carboidratos nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.6.2 Temperatura e lipídios totais

Para temperatura e lipídios totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 13 estudos (Figura 15). Os resultados mostram que o aumento da temperatura não apresenta influência significativa no acúmulo de lipídios nas microalgas, independentemente do tipo morfológico avaliado (SMD: 0,81; 95% CI: -0,62 a 2,25; $p = <0,01$; $I^2 = 89,3\%$). Para microalgas filamentosas e coloniais cenóbio temos I^2 próximos a 0% o que significa que a variância observada pode não ser verdadeira devido à baixa amostragem encontrada.

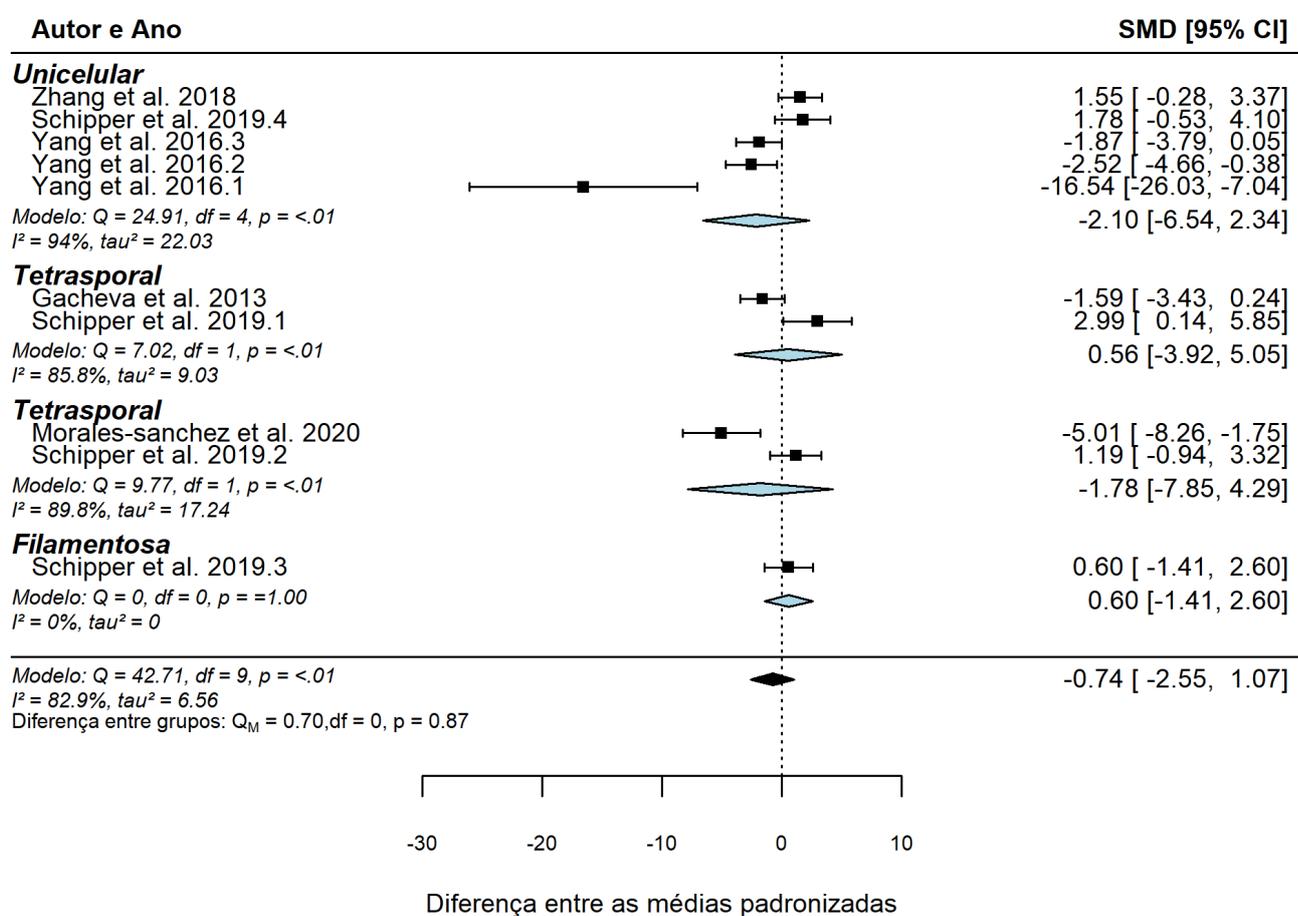
Figura 15 – “Forest plot” do efeito da temperatura no acúmulo de lipídios nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



3.6.3 Temperatura e proteínas totais

Para temperatura e proteínas totais a meta-análise foi realizada em dados extraídos de 5 estudos (Figura 16). A temperatura não influencia significativamente o acúmulo de proteínas nas microalgas, independentemente do tipo morfológico avaliado (SMD: -0,74; 95% CI: -2,55 a 1,07; $p = <0,01$; $I^2 = 82,9\%$). Para microalgas filamentosas temos $I^2 = 0\%$, indicando pouca ou nenhuma variação devido à baixa amostragem registrada.

Figura 16 – “Forest plot” do efeito da temperatura no acúmulo de proteínas nos diferentes tipos morfológicos de microalgas.



4 DISCUSSÃO

A presente meta-análise evidenciou o efeito das principais condições físico-químicas empregadas no cultivo de microalgas que podem alterar de forma significativa a síntese e acúmulo dos principais compostos bioquímicos de interesse comercial, mostrando que a manipulação dessas variáveis, associadas ao tipo morfológico da microalga cultivada, é uma forma efetiva para obtenção de biomassa com maior valor agregado, nutricional e comercial.

O nitrogênio e o fósforo são dois, dos dez, macronutrientes inorgânicos fundamentais para o desenvolvimento das microalgas (LOURENÇO, 2006). O nitrogênio é um constituinte essencial de compostos de carbono e substâncias estruturais como proteínas, ácidos nucleicos e coenzimas. Já o fósforo tem papel central em reações que envolvem armazenamento e uso de energia, na composição dos fosfolipídios e ácidos nucleicos (LOURENÇO, 2006; TAIZ e ZEIGER, 2013).

A partir desta meta-análise, padrões de utilização desses nutrientes puderam ser observados. Concentrações menores de fósforo no meio de cultura possibilita maior acúmulo de lipídios na biomassa microalgal, sobretudo em microalgas unicelulares imóveis. Dados semelhantes foram observados em estudos experimentais como o realizado por Sonkar e Mallick (2018), que cultivaram cinco espécies de microalgas, duas coloniais cenóbio, duas unicelulares imóveis e uma unicelular flagelada, em meio de cultura com depleção de fósforo e observaram aumento significativo na concentração de lipídeos, principalmente nas duas espécies de microalgas unicelulares.

Ao contrário do que se sabe para o fósforo, as respostas metabólicas das microalgas para diferentes concentrações de nitrogênio são amplamente discutidas na literatura. Espera-se, para a grande maioria das microalgas, que em condições de nitrogênio abundante, haja aumento nas concentrações de proteínas e clorofilas na biomassa e, para meios com pouco ou nenhum nitrogênio, maiores concentrações de lipídios sejam observadas (LOURENÇO, 2006). Uma vez que, nessas condições, o carbono orgânico disponível é direcionado para a síntese de compostos de reservas energéticas mais eficientes, como é o caso dos triglicerídeos (GONCALVES et al., 2016; PARICHEHREH et al., 2019; AHIAHONU et al., 2021). No entanto, através da meta-análise dos subgrupos, foi possível constatar que microalgas unicelulares imóveis acumulam preferencialmente proteínas e carboidratos em condições de nitrogênio

abundante, enquanto que, em condições de depleção de nitrogênio, microalgas com esse tipo morfológico priorizam a síntese de lipídeos. Outro subgrupo, o das microalgas flageladas, prioriza a síntese de proteínas em condições de nitrogênio abundante e não apresentam uma resposta clara na falta desse nutriente, podendo sintetizar tanto carboidrato quanto lipídeos.

Quanto maior a complexidade do ciclo de vida e do próprio organismo na fase vegetativa, em uma escala onde o unicelular imóvel é o nível menos complexo e o colonial tetrasporal o mais complexo, maior vai ser o tempo e energia gastos para que a cultura chegue na fase estacionária de crescimento. Organismos menores, com menor área de superfície por volume, apresentam maior absorção e assimilação dos nutrientes disponíveis no meio (PHATARPEKAR *et al.*, 2000; ARKRONRAT *et al.*, 2016), corroborando os dados observados nas análises dos subgrupos para as concentrações de fósforo e nitrogênio.

Não há em literatura um consenso a respeito do efeito da salinidade no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios nas microalgas. No entanto, espera-se que microalgas sob estresse salino, apresentem taxa de crescimento reduzida e baixa produção de biomassa, devido a alteração da utilização da energia disponível, antes focada nos processos de crescimento e fotossíntese, para a osmorregulação (BLINDOW *et al.*, 2015; SUDHIR e MURTHY, 2004; COHEN e FONG, 2004). No presente estudo, foi possível observar o efeito da salinidade na composição bioquímica da biomassa microalgal. De modo geral, menores níveis de salinidade tendem a induzir maior síntese de carboidratos e quando em meios de cultura altamente salinos, a síntese de lipídeos pode ser priorizada.

A composição bioquímica de microalgas filamentosas é extremamente influenciada pelos níveis de salinidade do meio de cultura. Para carboidratos e salinidade um efeito inversamente proporcional foi observado, já para lipídeos e proteínas o efeito da salinidade foi diretamente proporcional. Lawton e colaboradores (2015), cultivando diferentes cepas de *Oedogonium* sp., uma microalga filamentosa, observaram aumento no teor de proteínas e redução no teor de carboidratos com o aumento da salinidade em todas as cepas; já quanto aos teores de lipídios totais, não foi observado padrão, variando de formas diferentes entre as cepas.

O tipo morfológico da microalga utilizada em cultivo, não tem influência nas respostas metabólicas que serão adotadas por estes microrganismos quando em cultivos com diferentes intensidades luminosas. No entanto, ficou evidenciado que, de forma geral, altas intensidades luminosas estimulam maiores acúmulos de carboidratos e lipídeos na biomassa microalgal. Embora, o aumento da intensidade luminosa possa significar aumento no crescimento e das taxas fotossintéticas, o que corrobora os resultados obtidos na presente meta-análise, o tempo de exposição e o excesso de luminosidade pode provocar a inibição do crescimento, através do fenômeno conhecido como fotoinibição (GUPTA et al., 2019). Esse fenômeno, causa danos no aparato fotossintético, levando a formação de espécies reativas de oxigênio, sobretudo no fotossistema II, afetando o metabolismo da microalga (NAGAPPAN et al., 2020). He e colaboradores (2015), observaram aumento no conteúdo lipídico e redução no teor proteico e de carboidratos nas microalgas *Chlorella* sp. e *Monoraphidium* sp. sob intensidade luminosa elevada. Microalgas capazes de crescer sob altas irradiâncias, apresentam características evolutivas em seu aparato fotossintético e de captura da energia luminosa, como maior produção de pigmentos acessórios secundários, dentre eles os carotenoides, que desempenham papel importante na proteção dos fotossistemas contra os efeitos da irradiação luminosa excessiva (LOURENÇO, 2006; MORGAN-KISS et al., 2006).

Como esperado, não foram observados padrões entre a temperatura, o conteúdo proteico e o teor lipídico nas microalgas. O maior efeito da temperatura nos cultivos de microalgas está relacionado a taxa de crescimento. A temperatura ideal para o crescimento da grande maioria das microalgas está entre 20°C e 30°C (RAS et al., 2013; BERNARD e REMOND, 2012). Temperaturas elevadas, acima do ótimo, causam a desestruturação e desnaturação de proteínas e enzimas, levando a falhas no aparato fotossintético (ALLAKHEVERDIEV et al., 2008). Entretanto, para carboidratos, um condicionamento negativo pode ser observado, onde a diminuição da temperatura pode levar ao maior acúmulo desses açúcares nas células, principalmente nas microalgas unicelulares. Resultados semelhantes foram observados por Militão e colaboradores (2019), no cultivo de *Pseudopediastrum boryanum* em 30 e 20 °C, com maior teor de carboidratos encontrado em 20 °C.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo avaliou, sob uma ótica geral, mais ampla, e em subgrupos, baseados nos principais tipos morfológicos, possíveis padrões metabólicos adotados por cepas microalgais submetidas a diferentes condições de cultivo, podendo assim, confirmar padrões já esperados, como o aumento da concentração de proteínas e redução no teor de lipídios em microalgas cultivadas em meios ricos em nitrogênio. E, ao mesmo tempo, contribuir com novas observações de possíveis padrões ainda não tão bem elucidados, como o aumento do teor proteico em microalgas filamentosas em condições de salinidade elevada, redução do conteúdo de lipídeos em microalgas coloniais tetrasporais em alta salinidade e o aumento do teor lipídico em microalgas unicelulares imóveis sob depleção de fósforo, facilitando a tomada de decisão sobre as melhores condições para a implementação de culturas de microalgas com foco específico em determinados compostos bioquímicos.

No entanto, é importante ressaltar que a presente meta-análise separou o efeito das diferentes condições e as analisou isoladamente; se analisado o efeito das condições em conjunto, resultados diferentes dos aqui observados podem ser encontrados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMAKIS, ID; LAZARIDIS, PA; TERZOPOULOU, E; TOROFIAS, S; VALARI, M; KALAITZI, P; ROUSONIKOLOS, V; GKOUTZIKOSTAS, D; ZOUBOULIS, A; ZALIDIS, G; TRIANTAFYLLIDIS, KS. Cultivation, characterization, and properties of *Chlorella vulgaris* microalgae with different lipid contents and effect on fast pyrolysis oil composition. **Environmental Science and Pollution Research**, Alemanha, v. 25, p. 23018–23032, 2018.

AHIAHONU, EK; ANKU, WW; ROOPNARAIN, A. Bioprospecting wild South African microalgae as a potential third-generation biofuel feedstock, biological carbon-capture agent and for nutraceutical applications. **Biomass Conv. Bioref.**, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01675-8>

AKGUL, F. Effects of nitrogen concentration on growth, biomass, and biochemical composition of *Desmodemus communis* (E. Hegewald) E. Hegewald. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 50, n. 1, p. 99-105, 2020.

ALLAKHEVERDIEV, SI; KRESLAVSKI, VD; KLIMOV, VV; LOS, DA; CARPENTIER, R; MOHANTY, P. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis, **Photosynth. Res.**, v. 98, p541-550, 2008.

ARKRONRAT, W; DEEMARK, P; ONIAM, V. Growth performance and proximate composition of mixed cultures of marine microalgae (*Nannochloropsis* sp. & *Tetraselmis* sp.) with monocultures. **Songklanakarín J. Sci. Technol.**, Tailândia, v. 1, n. 38, p.1-5, 2016.

BANERJEE, S; SINGH, H; DAS, D; ATTA, A. Process Optimization for Enhanced Biodiesel Production by *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 with Concomitant CO₂ Sequestration. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 58, n. 35, p. 15760-15771, 2019.

BECKER, W. Microalgae for human and animal nutrition. In: A. RICHMOND and Q. HU, eds. **Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology**. 2nd ed. United Kingdom: John Wiley & Sons, pp. 461-503, 2013. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118567166.ch25>.

BERNARD, O., REMOND, B. Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth, **Bioresour. Technol.**, v. 123, p.520–527, 2012.

BOHNENBERGER, JE; CROSSETTI, LO. Influence of temperature and nutrient content on lipid production in freshwater microalgae cultures. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Brasil, v. 86, n. 3, p. 1239-1248, 2014.

BORENSTEIN, M *et al.* **Introduction to Meta-Analysis Introduction**. 1. ed. Índia: John Wiley and Sons, 413 p., 2009.

BRESAOLA, MD; MOROCHO-JÁCOME, AL; MATSUDO, MC; CARVALHO, JCM. Semi-continuous process as a promising technique in *Ankistrodesmus braunii* cultivation in photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, Brasil, v. 31, p. 2197–2205, 2019.

CAPORGNO, MP; MATHYS, A. Trends in Microalgae Incorporation Into Innovative Food Products With Potential Health Benefits. **Frontiers in Nutrition**, Spain, v. 5, n. 58, p. 1-10, 2018.

CHAKRABORTY, S; MOHANTY, D; GHOSH, S; DAS, D. Improvement of lipid content of *Chlorella minutissima* MCC 5 for biodiesel production. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Índia, v. 122, n. 3, p. 294-230, 2016.

CHEN, Y; TANG, X; KAPOORE, RV; XU, C; VAIDYANATHAN, S. Influence of nutrient status on the accumulation of biomass and lipid in *Nannochloropsis salina* and *Dunaliella salina*. **Energy Conversion and Management**, China, v. 106, p. 61-72, 2015.

CHO, JM; OH, YK; PARK, WK; CHANG, YK. Effects of Nitrogen Supplementation Status on CO₂ Biofixation and Biofuel Production of the Promising Microalga *Chlorella* sp. ABC-001. **J. Microbiol. Biotechnol.**, Korea, v. 30, n. 8, p. 1235-1243, 2020.

CHOI, GG; KIM, BH; AHN, CY; OH, HM. Effect of nitrogen limitation on oleic acid biosynthesis in *Botryococcus braunii*. **J Appl Phycol**, Korea, v. 23, p. 1031–1037, 2011.

COHEN, RA; FONG, P. Physiological responses of a bloom-forming green macroalga to short-term change in salinity, nutrients, and light help explain its ecological success, **Estuaries.**, v. 27, p.209–216, 2004.

DE RON, AM; SPARVOLI, F; PUEYO, JJ; BAZILE, D. Editorial: Protein Crops: Food and Feed for the future. **Frontiers in Plant Science**, Spain, v. 8, n. 105, p. 7-10, 2017.

EL-SHEEKH, MM; GHEDA, SF; EL-SAYED, AEKB; SHADY, AMA; EL-SHEIK, ME; SCHAGERL, M. Outdoor cultivation of the green microalga *Chlorella vulgaris* under stress conditions as a feedstock for biofuel. **Environmental Science and Pollution Research**, Cairo, v. 26, p. 18520–18532, 2019.

FAN, J; C, Y; WAN, M; WANG, W; LI, Y. Lipid accumulation and biosynthesis genes response of the oleaginous *Chlorella pyrenoidosa* under three nutrition stressors. **Biotechnology for Biofuels**, China, v. 7, n. 17, p. 1-14, 2014.

FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. The State of Food Security and Nutrition in the World. Transforming food systems for affordable healthy diets. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020. <https://doi.org/10.4060/ca9692en>

FAO. Review Paper, Algae-based Biofuels: Applications and Co-products. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010.

FAO. The future of food and agriculture – Alternative pathways to 2050. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 224 pp., 2018.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture: Sustainability in action. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

FENG, P; DENG, Z; FAN, L; HU, Z. Lipid accumulation and growth characteristics of *Chlorella zofingiensis* under different nitrate and phosphate concentrations. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, [s. l.], v. 114, n. 4, p. 405-410, 2012.

FENG, P; DENG, Z; HU, Z; FAN, L. Lipid accumulation and growth of *Chlorella zofingiensis* in flat plate photobioreactors outdoors. **Bioresource Technology**, China, v. 102, p. 10577–10584, 2011.

FENG, P; XU, Z; QIN, L; ALAM, MA; WANG, Z; ZHU, S. Effects of different nitrogen sources and light paths of flat plate photobioreactors on the growth and lipid

accumulation of *Chlorella* sp. GN1 outdoors. **Bioresource Technology**, China, v. 301, p. 1-9, 2020.

FOGLIANO, V; ANDREOLI, C; MARTELLO, A; CAIAZZO, M; LOBOSCO, O; FORMISANO, F; CARLINO, PA; MECA, G; GRAZIANI, G; RIGANO, VDM; VONA, V; CARFAGNA, S; RIGANO, C. Functional ingredients produced by culture of *Koliella antarctica*. **Aquaculture**, Italy, v. 299, p. 115-120, 2010.

GACHEVA, GV; GIGOVA, LG; IVANOVA, NY; PILARSKI, PS; LUKAVSKY, J. Growth, biochemical and enzymatic responses of thermal cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. (Cyanophyceae) to temperature and irradiance. **Phycological Research**, [s. l.], v. 61, p. 217-227, 2013.

GHOSH, A; SARKAR, S; GAYEN, K; BHOWMICK, TK. Effects of carbon, nitrogen, and phosphorus supplements on growth and biochemical composition of *Podoheidiella* sp. (MCC44) isolated from northeast India. **Environmental Progress and Sustainable Energy**, Índia, v. 39, n. 4, p. 1-12, 2019.

GIM, GH; RYU, J; KIM, MJ; KIM, PI; KIM, SW. Effects of carbon source and light intensity on the growth and total lipid production of three microalgae under different culture conditions. **J Ind Microbiol Biotechnol**, Korea, v. 43, p. 605-616, 2016.

GONCALVES, EC; WILKIE AC; KIRST M; RATHINASABAPATHI, B. Metabolic regulation of triacylglycerol accumulation in the green algae: identification of potential targets for engineering to improve oil yield. **Plant. Biotechnol. J.**, v. 14, p.1649–1660, 2016.

GORAIN, PC; BAGCHI, SK; MALLICK, N. Effects of calcium, magnesium and sodium chloride in enhancing lipid accumulation in two green microalgae. **Environmental Technology**, Índia, v. 34, n. 13-14, p. 1887-1894, 2013.

GRIS, B; MOROSINOTTO, T; GIACOMETTI, GM; BERTUCCO, A; SFORZA, E. Cultivation of *Scenedesmus obliquus* in Photobioreactors: Effects of Light Intensities

and Light–Dark Cycles on Growth, Productivity, and Biochemical Composition. **Appl Biochem Biotechnol**, Greece, v. 172, p. 2377–2389, 2014.

GUPTA, S; PAWAR, SB; PANDEY, RA; KANADE, GS; LOKHANDE, SK. Outdoor microalgae cultivation in airlift photobioreactor at high irradiance and temperature conditions: effect of batch and fed-batch strategies, photoinhibition, and temperature stress. **Bioprocess Biosyst. Eng.**, v. 42, n. 2, p.331–44, 2019.

HAMOUDA, RAE; ABOU-EL-SOUOD, GW. Influence of Various Concentrations of Phosphorus on the Antibacterial, Antioxidant and Bioactive Components of Green Microalgae *Scenedesmus obliquus*. **International Journal of Pharmacology**, v. 14, p. 99-107, 2017.

HARINI, AB; RAJKUMAR, R; TAKRIFF, MS. Enhanced production of lipid as biofuel feedstock from the marine diatom *Nitzschia* sp. by optimizing cultural conditions. **Bioresources**, India, v. 15, ed. 4, p. 7532-7550, 2020.

HE, Q; YANG, H; WU, L; HU, C. Effect of light intensity on physiological changes, carbon allocation and neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae, *Bioresour. Technol.* 191 (2015) 219–228, <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.05.021>.

HUANG, YT; LAI, CW; WU, BW; LIN, KS; WU, JCS; HOSSAIN, MSA; YAMAUCHI, Y; WU, KCW. Advances in bioconversion of microalgae with high biomass and lipid productivity. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, Taiwan, v. 79, p. 37-42, 2017.

KAEWKANNETRA, P; ENMAK, P; CHIU, T. The Effect of CO₂ and Salinity on the Cultivation of *Scenedesmus obliquus* for Biodiesel Production. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, Thailand, v. 17, p. 591-597, 2012.

KALACHEVA, GS; ZHILA, NO; VOLOVA, TG; GLADYSHEV, MI. The Effect of Temperature on the Lipid Composition of the Green Alga *Botryococcus*. **Microbiology**, Russia, v. 71, n. 3, p. 336–344, 2002.

KATO, Y; HO, SH; VAVRICKA, CJ; CHANG, JS; HASUNUMA, T. Evolutionary engineering of salt-resistant *Chlamydomonas* sp. strains reveals salinity stress-activated starch-to-lipid biosynthesis switching. **Bioresource Technology**, Japão, v. 245, p. 1484–1490, 2017.

KHATOON, H; RAHMAN, NA; BANERJEE, S; HARUN, N; SULEIMAN, SS; ZAKARIA, NH; LANANAN, F; HAMID, SHA; ENDUT, A. Effects of different salinities and pH on the growth and proximate composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. isolated from South China Sea cultured under control and natural condition. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Malaysia, v. 95, p. 11-18, 2014.

KIM, BH; RAMANAN, R; KANG, Z; CHO, DH; OH, HM; KIM, HS. *Chlorella sorokiniana* HS1, a novel freshwater green algal strain, grows and hyperaccumulates lipid droplets in seawater salinity. **Biomass and Bioenergy**, Korea, v. 85, p. 300-305, 2016.

KIRAN, B; PATHAK, K; KUMAR, R; DESHMUKH, D. Growth pattern and biofuel production potential of newly isolated microalga, *Chlorococcum* sp. IM-03 under nitrogen limited conditions. **J. Chem Technol Biotechnol**, v. 91, p. 1339-1344, 2015.

KOH, HG; KANG, NK; KIM, EK; SUH, WI; PARK, WK; LEE, B; CHANG, YK. Isolation and Characterization of Novel *Chlorella* Species with Cold Resistance and High Lipid Accumulation for Biodiesel Production. **J. Microbiol. Biotechnol.**, Korea, v. 29, n. 6, p. 952-961, 2019.

LAWTON, RJ; NYS, R; MAGNUSSON, ME; PAUL, NA. The effect of salinity on the biomass productivity, protein and lipid composition of a freshwater macroalga. **Algal Research**, Australia, v. 12, p. 213-220, 2005.

LI, L; ZHANG, L; ZHANG, Z; LIU, J. Comparison of heat resistance and application potential of two lipid-rich *Isochrysis galbana* strains. **Algal Research**, China, v. 20, p. 1-6, 2016.

LI, T; XU, J; WU, H; JIANG, P; CHEN, Z; XIANG, W. Growth and Biochemical Composition of *Porphyridium purpureum* SCS-02 under Different Nitrogen Concentrations. **Marine drugs**, China, v. 17, n. 124, p. 1-16, 2019.

LI, Y; HAN, F; XU, H; MU, J; CHEN, D; FENG, B; ZENG, H. Potential lipid accumulation and growth characteristic of the green alga *Chlorella* with combination cultivation mode of nitrogen (N) and phosphorus (P). **Bioresource Technology**, China, v. 174, p. 24-23, 2014.

LIU, J; MAO, X; ZHOU, W; GUARNIERI, MT. Simultaneous production of triacylglycerol and high-value carotenoids by the astaxanthin-producing oleaginous green microalga *Chlorella zofingiensis*. **Bioresource Technology**, China, v. 214, p. 319–327, 2016.

LOURENÇO, SO. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

LU, B; LI, M; QI, L. The Effect of Light on the Growth and Product accumulation of *Chlorella*. **Advanced Materials Research**, China, v. 724-725, p. 323-329, 2013.

MALTSEV, Y; MALTSEVA, I; MALTSEVA, S; KOCIOLEK, JP; KULIKOVSKIY, M. Fatty acid content and profile of the novel strain of *Coccomyxa elongata* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cultivated at reduced nitrogen and phosphorus concentrations. **J. Phycol.**, Russia, v. 55, p. 1154–1165, 2019.

MALTSEV, Y; MALTSEVA, I; MALTSEVA, S; KOCIOLEK, JP; KULIKOVSKIY, M. A new species of freshwater algae *Nephrochlamys yushanlensis* sp. Nov. (Selenastraceae, Sphaeropleales) and its lipid accumulation during nitrogen and phosphorus starvation. **J. Phycol.**, Russia, v. 57, p. 606-618, 2021.

MARKOU, G; CHATZIPAVLIDIS, I; GEORGAKAKIS, D. Effects of phosphorus concentration and light intensity on the biomass composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. **World J Microbiol Biotechnol**, Greece, v. 28, p. 2661–2670, 2012.

METSOVITI, MN; KATSOULAS, N; KARAPANAGIOTIDIS, IT; PAPAPOLYMEROU, G. Effect of nitrogen concentration, two-stage and prolonged cultivation on growth rate, lipid and protein content of *Chlorella vulgaris*. **J Chem Technol Biotechnol**, Greece, v. 94, p. 1466-1473, 2019.

MILITÃO, F P; FERNANDES, V O; BASTOS, K V; MARTINS, A P; COLEPICOLO, P; MACHADO, L P. Nutritional value changes in response to temperature, microalgae mono and mixed cultures. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Vitória, ES, v. 31, ed. 17, p. 1-11, 2019

MORALES-SANCHEZ, D; SCHULZE, PSC; KIRON, V; WIJFFELS, RH. Production of carbohydrates, lipids and polyunsaturated fatty acids (PUFA) by the polar marine microalga *Chlamydomonas malina* RCC2488. **Algal Research**, Netherlands, v. 50, p. 1-10, 2020.

MORALES-SÁNCHEZ, D; SCHULZE, PSC; KIRON, V; WIJFFELS, RH. Temperature-Dependent Lipid Accumulation in the Polar Marine Microalga *Chlamydomonas malina* RCC2488. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 619064, p. 1-10, 2020.

MORGAN-KISS, RM; PRISCU, JC; POCOCK, T; GUDYNAITE-SAVITCH, L; HUNER, NPA. Adaptation and acclimation of photosynthetic microorganisms to permanently cold environments, **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 70, p.222–252, 2006. <https://doi.org/10.1128/MMBR.70.1.222-252.2006>.

MOUSSA, IDB; CHTOUROU, H; KARRAY, F; SAYADI, S; DHOUIB, A. Nitrogen or phosphorus repletion strategies for enhancing lipid or carotenoid production from *Tetraselmis marina*. **Bioresource Technology**, Tunisia, v. 238, p. 325-332, 2017.

NAGAPPAN, S; BHOSALE, R; NGUYEN, DD; PUGAZHENDHI, A; TSAI, PC; CHANG, SW; PONNUSAMY, VK; KUMAR, G. Nitrogen-fixing cyanobacteria as a potential resource for efficient biodiesel production. **Fuel**, Índia, v. 279, p. 1-6, 2020.

OLIVEIRA, CYB; OLIVEIRA, CCL; PRASAD, R; ONG, HC; ARAUJO, ES; SHABNAM, N; GÁLVEZ, AO. A multidisciplinary review of *Tetradismus obliquus*: a microalga suitable for large-scale biomass production and emerging environmental applications. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, ed. 3, p. 1594-1618, 2021.

OU, MM; WANG, Y; CAI, WM. Physiological and Biochemical Changes in *Microcystis aeruginosa* Qutz. in Phosphorus Limitation. **Journal of Integrative Plant Biology**, China, v. 47, n. 6, p. 692-702, 2005.

PARICHEHREH, R; GHESHLAGHI, R; MAHDAVI, MA; ELKAMEL, A. Optimization of lipid production in *Chlorella vulgaris* for biodiesel production using flux balance analysis. **Biochemical Engineering Journal**, Iran, v. 141, p. 131-145, 2019.

PENG, X; MENG, F; WANG, Y; YI, X; CUI, H. Effect of pH, Temperature, and CO₂ Concentration on Growth and Lipid Accumulation of *Nannochloropsis* sp. MASCC 11. **J. Ocean Univ. China**, China, v. 19, n. 5, p. 1183-1192, 2013.

PHATARPEKAR, PV. A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures. **Aquaculture**, India, v. 181, p.141-155, 2000.

PUGKAEW, W; MEETAM, M; YOKTHONGWATTANA, K; LEERATSUWAN, N; POKETHITIYOOK, P. Effects of salinity changes on growth, photosynthetic activity, biochemical composition, and lipid productivity of marine microalga *Tetraselmis suecica*. **Journal of Applied Phycology**, Thailand, v. 31, p. 969–979, 2019.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2010. URL: <https://www.R-project.org/>

RAS, M; STEYER, JP; BERNARD, O. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production, **Rev. Environ. Sci. Biotechnol.**, v. 12, p.153–164, 2013.

REARTE, TA; VÉLEZ, CG; BELIGNI, MV; FIGUEROA, FL; GÓMEZ, PI; FLAIG, D; IORICO, AF. Biological characterization of a strain of *Golenkinia* (Chlorophyceae) with high oil and carotenoid content induced by increased salinity. **Algal Research**, Buenos Aires, v. 33, p. 218-230, 2018.

ROHATGI, Ankit. **WebPlotDigitizer**. 4.5. Pacifica, California, USA, 2021. Disponível em: <https://apps.automeris.io/wpd/>. Acesso em: 30 jan. 2022.

RUANGSOMBOON, S. Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2. **Bioresource Technology**, Thailand, v. 109, p. 261-265, 2012.

SASSI, PGP; CALIXTO, CD; DA SILVA SANTANA, JK; SASSI, R; SASSI, CFC; ABRAHÃO, R. Cultivation of freshwater microalgae in biodiesel wash water. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 24, p.18332–18340, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9351-4>

SCHIPPER, K; MURAIKHI, M; ALGHASAL, GSKS; SAADAOU, I; BOUNNIT, T; RASHEED, R; DALGAMOUNI, T; JABRI, HMSJA; WIJFFELS, RH; BARBOSA, MJ. Potential of novel desert microalgae and cyanobacteria for commercial applications and CO₂ sequestration. **Journal of Applied Phycology**, France, v. 31, p. 2231–2243, 2019.

SELVAKUMAR, P; UMADEVI, K. Enhanced lipid and fatty acid content under photoheterotrophic condition in the mass cultures of *Tetraselmis gracilis* and *Platymonas convolutae*. **Algal Research**, Italy, v. 6, p. 180-185, 2014.

SEO, SH; HA, JS; YOO, C; SRIVASTAVA, A; AHN, CY; CHO, DH; LA, HJ; HAN, MS; OH, HM. Light intensity as major factor to maximize biomass and lipid productivity of *Ettlia* sp. in CO₂-controlled photoautotrophic chemostat. **Bioresource Technology**, Korea, v. 244, p. 621-628, 2017.

SETTA, BRS; BARBARINO, E; PASSOS, FB; LOURENÇO, SO. An assessment of the usefulness of the cyanobacterium *Synechococcus subsalsus* as a source of biomass for biofuel production. **Latin American Journal of Aquatic Researchl.**, Brasil, v. 42, n. 2, p. 364-375, 2014.

SFORZA, E; GRIS, B; SILVA, CEF; MOROSINOTTO, T; BERTUCCO, A. Effects of Light on Cultivation of *Scenedesmus Obliquus* in Batch and Continuous Flat Plate Photobioreactor. **Chemical engineering transactions**, Italy, v. 38, p. 211-216, 2014.

SHALABY, EA; SHANAB, SMM; SINGH, V. Salt stress enhancement of antioxidant and antiviral efficiency of *Spirulina platensis*. **Journal of Medicinal Plants Research**, Cairo, v. 4, n. 24, p. 2622-2632, 2010.

SILVA, JWA; ARAUJO, GS; COELHO, AAC; BEZERRA, JHC; LOPES, DNM; FARIAS, WRL. Effect of nitrate depletion on lipid accumulation by the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. **Bol. Inst. Pesca**, Brasil, v. 41, p. 811-816, 2015.

SONKAR, S; MALLICK, N. An alternative strategy for enhancing lipid accumulation in Chlorophycean microalgae for biodiesel production. **Journal of Applied Phycology**, Índia, v. 30, p. 2179–2192, 2018.

SONMEZ, C; ELCIN, E; AKIN, D; OKTEM, HA; YUCEL, M. Evaluation of novel thermo-resistant *Micractinium* and *Scenedesmus* sp. for efficient biomass and lipid production under different temperature and nutrient regimes. **Bioresource Technology**, Turkey, v. 211, p. 422-428, 2016.

SORU, S; MALAVASI, V; CONCAS, A; CARBONI, P; CAO, G. A novel investigation of the growth and lipid production of the extremophile microalga *Coccomyxa melkonianii* SCCA 048 under the effect of different cultivation conditions: Experiments and modeling. **Chemical Engineering Journal**, Italy, v. 377, p. 1-14, 2019.

SRIVASTAVA, G; NISHCHAL; GOUD, VV. Salinity induced lipid production in microalgae and cluster analysis (ICCB 16-BR_047). **Bioresource Technology**, Índia, v. 242, p. 244-252, 2017.

SU, H; FENG, J; LIU, Q; NAN, F; LIU, Z; XIE, S. Molecular Mechanism of Lipid Accumulation and Metabolism of Oleaginous *Chlorococcum sphacosum* GD from Soil under Salt Stress. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, p. 2-15, 2021.

SUDHIR, P; MURTHY, SDS. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis, **Photosynthetica**, v. 42, p.481–486, 2004.

SUN, Z; ZHOU, ZG; GERKEN, H; CHEN, F; LIU, J. Screening and characterization of oleaginous *Chlorella* strains and exploration of photoautotrophic *Chlorella* protothecoides for oil production. **Bioresource Technology**, Índia, v. 184, p. 53-62, 2015.

SUTHAR, S; VERMA, R. Production of *Chlorella vulgaris* under varying nutrient and abiotic conditions: A potential microalga for bioenergy feedstock. **Process Safety and Environmental Protection**, Índia, v. 113, p. 141-148, 2018.

TAIZ, L; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 5ed., Artmed, 918p., 2013.

TAKAGI, M; KARSENO; YOSHIDA, T. Effect of Salt Concentration on Intracellular Accumulation of Lipids and Triacylglyceride in Marine Microalgae *Dunaliella* Cells. **Journal of bioscience and bioengineering**, Japan, v. 101, n. 3, p. 223-226, 2006.

TIBBETTS, SM; MELANSON, RJ; PARK, KC; BANSKOTA, AH; STEFANOVA, R; MCGINN, PJ. Nutritional Evaluation of Whole and Lipid-Extracted Biomass of the Microalga *Scenedesmus* sp. AMDD Isolated in Saskatchewan, Canada for Animal Feeds: Proximate, Amino Acid, Fatty Acid, Carotenoid and Elemental Composition. **Current Biotechnology**, v. 4, p.530-546, 2015.

VIECHTBAUER, W. Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *Journal of Statistical software*, v. 36, n. 3, p.1-48, 2010.

WANG, L; LI, Y; SOMMERFELD, M; HU, Q. A flexible culture process for production of the green microalga *Scenedesmus dimorphus* rich in protein, carbohydrate or lipid. **Bioresource Technology**, Arisona, v. 129, p. 289–295, 2013.

WIDJAJA, A; CHIEN, CC; JU, YH. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, Indonesia, v. 40, p. 13-20, 2009.

YANG, H; HE, Q; HU, C. Lipid accumulation by NaCl induction at different growth stages and concentrations in photoautotrophic two-step cultivation of *Monoraphidium dybowskii* LB50. **Bioresource Technology**, China, v. 187, p. 221-227, 2015.

YANG, W; ZOU, S; HE, M; FEI, C; LUO, W; ZHENG, S; CHEN, B. Growth and lipid accumulation in three *Chlorella strains* from different regions in response to diurnal temperature fluctuations. **Bioresource Technology**, China, v. 202, p. 15-24, 2016.

YILANCIOGLU, K; COKOL, M; PASTIRMACI, I; ERMAN, B; CETINER, S. Oxidative Stress Is a Mediator for Increased Lipid Accumulation in a Newly Isolated *Dunaliella salina* Strain. **PlosONE**, Turkey, v. 9, n. 3, p. 1-13, 2014.

ZHANG, D; WEN, S; WU, X; CONG, W. Effect of culture condition on the growth, biochemical composition and EPA production of alkaliphilic *Nitzschia plea* isolated in the Southeast of China. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, China, v. 41, p. 831–839, 2018.

ZHAO, Z; MA, S; LI, A; LIU, P; WANG, M. Effects of Trophic Modes, Carbon Sources, and Salinity on the Cell Growth and Lipid Accumulation of Tropic Ocean Oilgae Strain *Desmodesmus* sp. WC08. **Appl Biochem Biotechnol**, China, v. 180, p. 452-463, 2016.

ZHU, S; WANG, Y; SHANG, C; WANG, Z; XU, J; YUAN, Z. Characterization of lipid and fatty acids composition of *Chlorella zofingiensis* in response to nitrogen starvation. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, China, v. 120, n. 5, p. 205-209, 2015.

CAPÍTULO 2 – Caracterização bioquímica e crescimento de dez espécies de microalgas, associadas a piscicultura, para potencial aplicação alimentar

Autores: Frederico Pacheco Militão^{1*} • Levi Pompermayer Machado² • Valéria de Oliveira Fernandes¹

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Do Estado de São Paulo, Departamento de Engenharia de Pesca, CEP 11900-000, Registro, SP, Brasil.

*Autor para correspondência: fredericomilitao@gmail.com

Artigo a ser submetido para a revista “Algal research”. Guide lines: <https://www.elsevier.com/journals/algal-research/2211-9264?generatepdf=true>

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo principal avaliar a composição bioquímica de 10 microalgas isoladas a partir de tanques de piscicultura, necessárias para selecionar espécies ideais para aplicações biotecnológicas específicas. O cultivo foi do tipo batelada, sem aspersão direta de CO₂, pH inicial de $7 \pm 0,05$ e aeração constante de 3,5 L/min de ar. Os cultivos foram realizados em quadruplicada em meio ASM1 (Cyanophyta) e BBM (Chlorophyta), com inóculo inicial de $3,0 \times 10^5$ Cel/mL⁻¹, com exceção do cultivo de *S. hirsutum*, espécie com crescimento mais lento, o qual foi de 3250 Cel/mL⁻¹, mantidas as proporções. Análises estatísticas mostraram haver diferença significativa nos parâmetros cinéticos de crescimento entre as espécies estudadas, com incremento de biomassa. As maiores concentrações de carboidratos totais solúveis, ao final do experimento, foram encontradas nas espécies *Chlorococcum* sp. (12 mg/g MS), *Kirchneriella* sp. (11,3 mg/g MS) e *M. wesenbergii* (11,3 mg/g MS). *Chlorococcum* sp. também apresentou as maiores concentrações de frutose (12,7 mg/g MS), sacarose (16,6 mg/g MS) e amido (934 mg/g MS). *S. javanensis* (357 mg/g MS), *C. pulchra* (343 mg/g MS), *S. hirsutum* (336 mg/g MS), *Chlorococcum* sp. (307 mg/g MS), *H. reticulata* (306 mg/g MS), *Kirchneriella* sp. (304 mg/g MS) e *C. vulgaris* (303 mg/g MS) não diferiram estatisticamente entre si, em relação a concentração de proteínas totais solúveis. Microalgas isoladas, no presente estudo, a partir de tanques de pisciculturas podem ser consideradas fontes promissoras de biomassa para matéria prima utilizada na complementação da alimentação animal. O elevado teor de amido encontrado indica ainda, potencial utilização dessa biomassa na produção de bioetanol.

Palavras-chave: Floração, tanques rede, Proteínas, Carboidratos.

ABSTRACT

The aim of the present study is to compile information about the biochemical composition of 10 microalgae isolated from fish farming ponds, necessary to select ideal species for biotechnological applications. The cultivation was the batch type, without direct spraying of CO₂, initial pH of 7 ± 0.05 and constant aeration of 3.5 L/min of air. The cultures were performed in quadruplicate in ASM1 (Cyanophyta) and BBM (Chlorophyta) medium, with an initial inoculum of 3.0×10^5 Cel/mL⁻¹, with the exception of *S. hirsutum*, a species with slower growth, which was of 3250 Cel/mL⁻¹, keeping the proportions. Statistical analyzes showed a significant difference in the kinetic parameters of growth between the species studied, with an increase in biomass. The highest concentrations of total soluble carbohydrates, at the end of the experiment, were found in the species *Chlorococcum* sp. (12 mg/g DM), *Kirchneriella* sp. (11.3 mg/g DM) and *M. wesenbergii* (11.3 mg/g DM). *Chlorococcum* sp. also had the highest statistically significant concentrations of fructose (12.7 mg/g DM), sucrose (16.6 mg/g DM) and starch (934 mg/g DM). *S. javanensis* (357 mg/g DM), *C. pulchra* (343 mg/g DM), *S. hirsutum* (336 mg/g DM), *Chlorococcum* sp. (307 mg/g DM), *H. reticulata* (306 mg/g DM), *Kirchneriella* sp. (304 mg/g DM) and *C. vulgaris* (303 mg/g DM) did not differ statistically from each other in terms of the concentration of total soluble proteins. Microalgae isolated from fish-farming tanks can be considered promising sources of biomass for raw material used to complement animal feed. The high starch content found also indicates a potential use of this biomass in the production of bioethanol.

Keywords: Microalgae cultivation, fish farming, proteins, carbohydrates, lipids.

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura é o setor de criação animal voltado para a alimentação humana que mais cresce mundialmente. Sua manutenção depende da produtividade natural dentro dos tanques e da sua suplementação alimentar (SMITH et al., 2008). No mundo, os principais países produtores de peixes em sistemas de pisciculturas são a China, representando 45% da produção mundial de pescado, seguido pela Índia, Vietnã e Indonésia (SEBRAE, 2015). O Brasil aparece na décima segunda colocação do ranque mundial dos principais países aquícolas (SEBRAE, 2015), sendo os Ciprinídeos e a tilápia do Nilo as espécies mais cultivadas e comercializadas mundialmente (SEBRAE, 2015; BRABO et al., 2016; BALDISSEROTTO, 2009).

Na cadeia produtiva da piscicultura o principal insumo é a ração, que pode chegar a até 80% do custo de produção. A ração usada também influencia no rendimento de carne dos animais, conversão alimentar, sobrevivência e produtividade (SEBRAE, 2015). Entretanto, o uso indiscriminado de suplementação alimentar por meio de rações ricas em proteínas, nitrogênio e fósforo, juntamente com outros fatores, contribuem para a eutrofização dos tanques e para a proliferação excessiva de microalgas (SMITH et al., 2008).

O controle das florações de microalgas em tanques de piscicultura tem caráter evasivo, principalmente na aquicultura intensiva, pois além de receberem grandes insumos de nutrientes que não são assimilados pelos peixes e as excretas nitrogenadas desses animais, esses sistemas são, em sua maioria, implementados em ambientes tropicais, com condições adequadas para a proliferação de algas (SMITH et al., 2008).

Nas últimas décadas o uso de microalgas como suplementação nutricional de rações é reconhecido e utilizado para otimizar a alimentação de peixes, crustáceos, moluscos e até animais de fazenda, como galináceos e porcos. Cerca de 30% da biomassa microalgal produzida mundialmente é utilizada na alimentação animal, principalmente no setor da aquicultura (BHALAMURUGAN et al., 2018; HUNTLEY et al., 2015; MOLINO et al., 2018). Microalgas são uma fonte rica em proteínas e com elevado valor nutricional (ASLAM et al., 2020). Espécies comumente utilizadas na alimentação animal incluem os gêneros *Chloroella*, *Scenedesmus*, *Haematococcus*, *Dunaliella* e *Nannochloropsis* (RAJVANSHI et al., 2019; BHALAMURUGAN et al., 2018).

Haematococcus pluvialis na fase vermelha (encistada) é utilizada como corante aditivo na alimentação de camarões, salmonídeos e carpas, na forma de biomassa liofilizada ou como extrato de astaxantina. *Dunaliella salina* e *Nannochloropsis* sp. também são utilizadas na suplementação desses animais devido aos altos índices de proteínas, carotenoides e ácidos graxos encontrados em sua biomassa (MOLINO et al., 2018), bem como *Nanofrustulum* sp. e *Tetraselmis* sp. (KIRON et al., 2012).

O cultivo integrado de *Litopenaeus unnamei* (camarão) e três microalgas, *Chlorella vulgaris*, *Chaetoceros muelleri* e *Platymonas helgolandica*, teve efeito significativo na performance de crescimento do camarão e na qualidade da água dos tanques (GE et al., 2016). O beta-caroteno extraído de algas do gênero *Dunaliella* é utilizado como corante e fonte de vitamina A (BHALAMURUGAN et al., 2018), co-culturas de camarões com *Dunaliella* previne infecções por patógenos, estimulando o sistema imune desses animais (ASLAM et al., 2020).

A pesar dos avanços consideráveis, produtividade e custo continuam sendo dois fatores fundamentais à comercialização de produtos à base de microalgas (HUNTLEY et al., 2015). Microalgas são um grupo extremamente diversificado de organismos, que por sua vez apresentam grande variação em suas composições bioquímicas. Entretanto, essa diversidade não é totalmente explorada (BOROWITZKA, 2013). A caracterização da composição bioquímica das diferentes espécies nos permite não só conhecer as particularidades de cada microalga em produzir determinados compostos como ácidos graxos, proteínas, carboidratos e pigmentos, mas também identificar suas possíveis aplicações em diferentes setores industriais (MOLINO et al., 2018)

Por seu clima tropical, o Brasil apresenta grande potencial de crescimento das atividades relacionadas a aquicultura; no entanto, tais características, atreladas ao aumento de nutrientes disponíveis nos tanques, também favorecem o surgimento de florações de microalgas. O presente estudo tem como objetivo principal avaliar a composição bioquímica de microalgas isoladas a partir de tanques de piscicultura, afim de selecionar espécies ideais para aplicações biotecnológicas específicas, como a alimentação animal e humana.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção das cepas

As espécies de microalgas foram isoladas, por meio de pipetagem e diluições sucessivas (LOURENÇO, 2006), a partir de amostras coletadas dos tanques de piscicultura, com auxílio de uma rede de plâncton (BICUDO e MENEZES, 2017), localizados nas cidades de Fartura (23°22'44.4"S 49°35'15.7"W) e Registro (24°29'25.6"S 47°49'40.1"W), no estado de São Paulo, Brasil. Após isolamento as cepas foram mantidas sob condições adequadas no Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais (LATEAC) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Dessa forma 10 espécies, de 9 gêneros e duas Divisões diferentes, encontradas com maior frequência nas pisciculturas, foram selecionadas para aumento de biomassa e cultivo em escala laboratorial, sendo os táxons: *Scenedesmus javanensis*, *Pediastrum duplex*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., *Chlorococcum* sp., *Staurastrum hirsutum*, *Kirchneriella* sp., *Crucigeniella pulchra*, *Hariotina reticulata* (todas da Divisão Chlorophyta) e *Microcystis wesenbergii* (Cyanophyta).

2.2 Condições de cultivo

Os cultivos foram realizados em erlenmeyers de 3L, contendo 2,5 litros de meio ASM1, para cianobactérias, e BBM para clorófitas, mantidos em estufas (Eletrolab, EL 202/3; Brasil) ajustadas a temperatura de 23 °C, fotoperíodo de 12/12h (luz/escuro) com iluminância máxima de 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O cultivo foi do tipo batelada, sem aspersão direta de CO₂, pH inicial de $7 \pm 0,05$ e aeração constante de 3,5 L/min de ar. Os cultivos foram realizados em quadruplicada em meio ASM1 (Cyanophyta) (GORHAM et al., 1964) e BBM (Chlorophyta) (STEIN, 1975), com inóculo inicial de $3,0 \times 10^5$ Cel/mL⁻¹, com exceção do cultivo de *S. hirsutum*, espécie com crescimento mais lento, o qual foi de 3250 Cel/mL⁻¹, mantidas as proporções.

Uma sequência pré-determinada de rodízio dos erlenmeyers nas estufas incubadoras foi estabelecida para garantir a uniformidade das condições de cultivo. O experimento teve duração de 29 dias.

2.3 Avaliação do crescimento

A densidade celular foi determinada com auxílio de espectrofotômetro (Thermo Scientific, Aquamate plus; EUA), baseado na obstrução física da luz pelas células. Para isso, a cada 48h, foi realizada leitura da absorvância de alíquotas de 3 mL dos cultivos em comprimento de onda de 570 nm (LOURENÇO, 2006).

A biomassa seca foi determinada através da filtração de alíquotas dos cultivos a cada 4 dias em filtros de fibra de vidro (Macherey-Nagel, GF1 47 mm), seguido de secagem em estufa a 65°C até a obtenção de peso constante. A produtividade (P , mg/ L⁻¹/ dia⁻¹), foi calculada de acordo com a seguinte equação: $P = (X_t - X_0)/(t - t_0)$, sendo X_t a densidade celular (mg/ L⁻¹) no tempo t (dia) e X_0 é a densidade celular inicial (mg/ L⁻¹) no tempo inicial t_0 (dia) (HO et al., 2013).

Nos cálculos da taxa de crescimento (r), duplicações por dia (k) e tempo médio de duplicação (G), foram utilizados os valores compreendidos na fase exponencial do crescimento. Temos $r = (\ln N_2 - \ln N_1)/(T_2 - T_1)$, sendo N_1 e N_2 o número de células nos tempos T_1 e T_2 . A partir de r , calcula-se o tempo médio de duplicação, $G = 0,6931/r$, e as duplicações por dia, $k = r/0,6931$. O rendimento máximo (R_{max}) foi calculado pela subtração do maior valor de densidade obtido (Cel/mL⁻¹) pelo valor inicial inoculado (FOGG e TAKE, 1987).

2.4 Carboidratos hidrossolúveis, amido, proteínas totais e pigmentos

A determinação dos açúcares totais solúveis seguiu o método Fenol-Sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). Também foram quantificadas as concentrações de frutose livre e ligada (JERMYN, 1956), sacarose (RIAZI et al., 1985) e amido (AMARAL et al., 2007). As concentrações de proteínas totais solúveis foram determinadas seguindo o procedimento descrito por Lowry e colaboradores (1978). Clorofila 'a' e carotenoides totais foram extraídos em acetona 90% (LOURENÇO, 2006) e suas quantificações realizadas em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Aquamate plus; EUA) utilizando as equações proposta por Lorenzen (1967) e Strickland e Parsons (1968), respectivamente. As análises de carboidratos totais solúveis, frutose, sacarose, amido e proteínas foram realizadas com a biomassa liofilizada, apenas ao final do experimento. As análises de clorofila 'a' e carotenoides totais foram realizadas durante o experimento, nos dias 05, 17 e 29 de cultivo.

2.5 Análises estatísticas

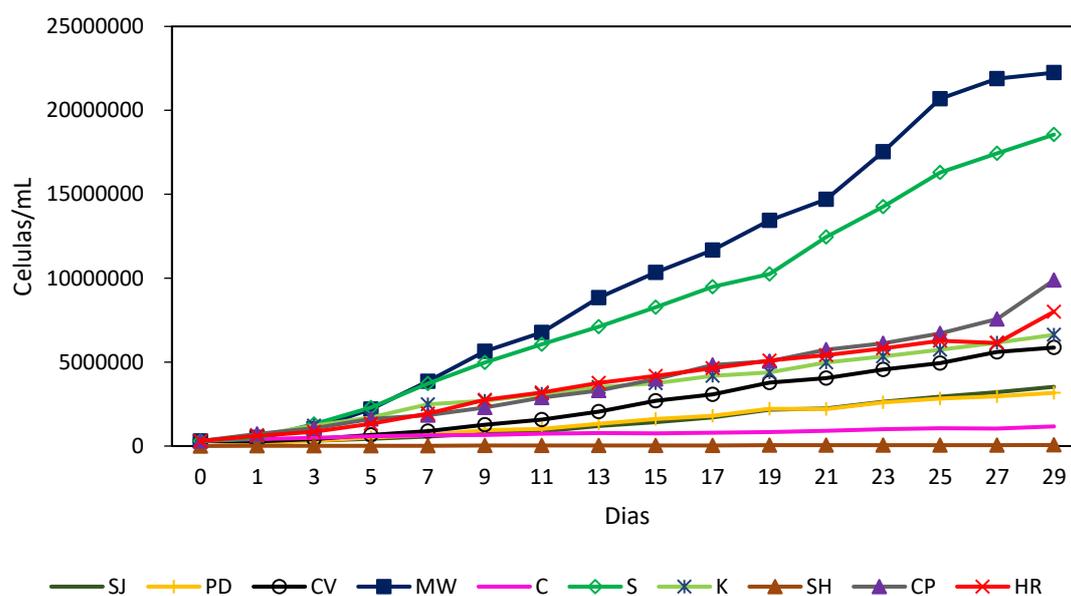
Os dados obtidos nas análises de crescimento, massa seca, proteínas totais solúveis, açúcares totais solúveis, frutose, sacarose, amido e pigmentos foram submetidos a análise de normalidade de Shapiro-Wilk; os dados paramétricos foram submetidos a análise de variância ANOVA e ao teste *a posteriori* de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. O programa utilizado para a realização dos testes foi o InfoStat versão 2019e (DI RIENZO et al., 2019).

3 RESULTADOS

3.1 Crescimento e massa seca

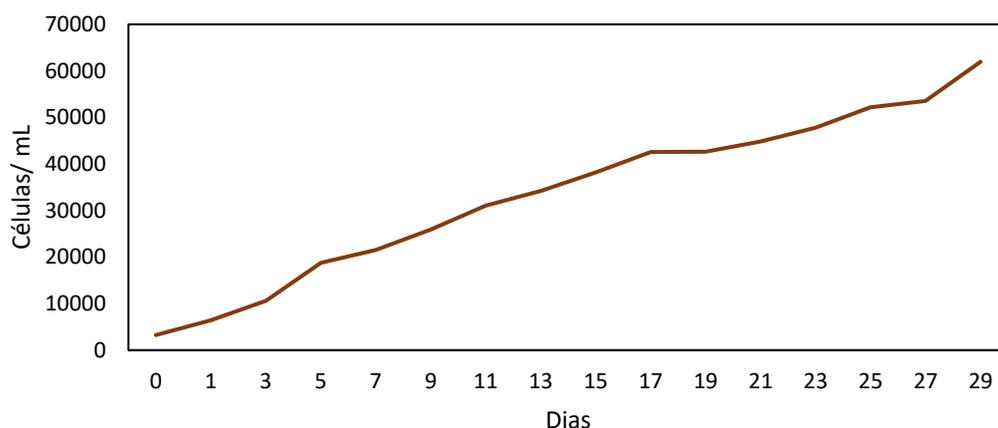
As curvas de crescimento das 10 espécies cultivadas, em escala laboratorial, são mostradas nas figuras 01 e 02.

Figura 01 - Curva de crescimento dos cultivos



PD = *Pediastrum duplex*; SJ = *Scenedesmus javanensis*; CV = *Chlorella vulgaris*; MW = *Microcystis wesenbergii*; S = *Scenedesmus* sp.; C = *Chlorococcum* sp.; K = *Kirchneriella* sp.; SH = *Staurastrum hirsutum*; CP = *Crucigeniella pulchra*; HR = *Hariotina reticulata*. Média \pm DP (n = 4).

Figura 02 - Curva de crescimento de *Staurastrum hirsutum*



Não foram registradas espécies com fase de adaptação ao cultivo e apenas *M. wesenbergii*, no 27º dia de cultivo, mostrou indícios de entrada na fase de crescimento estacionária, caracterizada pela densidade celular constante.

Análises estatísticas mostraram haver diferença significativa nos parâmetros cinéticos de crescimento entre as espécies estudadas (Tabela 01). *Microcystis wesenbergii* e *Scenedesmus* sp. apresentaram as maiores taxas de crescimento, mais duplicações por dia e, um menor tempo de duplicação populacional, sem diferenças significativas entre si. *M. wesenbergii* obteve rendimento celular significativamente maior que as demais espécies.

Tabela 01 - Parâmetros de crescimento das dez espécies de microalgas cultivadas

Espécies	r (Dia)	k (Dia)	G (Dia)	Rmax (Cel/ mL)
SJ	0,54 ± 0,01 c	0,77 ± 0,01 d	1,29 ± 0,014 c	3,47 x 10 ⁶ d
PD	0,53 ± 0,01 c	0,76 ± 0,01 d	1,30 ± 0,014 c	2,63 x 10 ⁶ d
CV	0,55 ± 0,01 b	0,79 ± 0,01 c	1,25 ± 0,024 d	6,23 x 10 ⁶ c
MW	0,60 ± 0,01 a	0,87 ± 0,01 a	1,15 ± 0,018 e	24,22 x 10 ⁶ a
C	0,48 ± 0,02 d	0,69 ± 0,02e	1,44 ± 0,047 b	9,94 x 10 ⁵ d
S	0,60 ± 0,00 a	0,86 ± 0,01 a	1,16 ± 0,009 e	19,26 x 10 ⁶ b
K	0,56 ± 0,01 b	0,80 ± 0,02 c	1,25 ± 0,024 d	6,88 x 10 ⁵ c
SH	0,39 ± 0,01 e	0,56 ± 0,02 f	1,79 ± 0,063 a	6,59 x 10 ⁴ d
CP	0,57 ± 0,01 b	0,82 ± 0,01 b	1,21 ± 0,011 d	10,05 x 10 ⁶ c
HR	0,56 ± 0,01 b	0,81 ± 0,01 b	1,23 ± 0,013 d	8,17 x 10 ⁶ c

PD = *Pediastrum duplex*; SJ = *Scenedesmus javanensis*; CV = *Chlorella vulgaris*; MW = *Microcystis wesenbergii*; S = *Scenedesmus* sp.; C = *Chlorococcum* sp.; K = *Kirchneriella* sp.; SH = *Staurastrum hirsutum*; CP = *Crucigeniella pulchra*; HR = *Hariotina reticulata*. Valores seguidos por letras diferentes na coluna (a, b, c, d, e, f) diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Média ± DP (n = 4). r = taxa de crescimento; k = duplicações por dia; G = Tempo de duplicação; Rmax = rendimento máximo.

Houve incremento significativo em biomassa ($F = 2.0290$), quando comparados os dias 05 e 29 de cultivo, em todas as espécies, sendo *M. wesenbergii* a espécie com maior biomassa e produtividade ao final do experimento, seguido de *H. reticulata*, *S. hirsutum*, *Scenedesmus* sp., *C. vulgaris* e *S. javanensis*, essas sem diferença significativa entre si (Tabela 02).

Tabela 02 - Variação e produtividade (P) em biomassa (MS) dos cultivos durante 29 dias

Espécies	Dia 5 (g/L ⁻¹)	Dia 11 (g/L ⁻¹)	Dia 17 (g/L ⁻¹)	Dia 23 (g/L ⁻¹)	Dia 29 (g/L ⁻¹)	P (mg/L ⁻¹ /dia ⁻¹)
SJ	0,08 ± 0,01 aC	0,15 ± 0,04 bC	0,26 ± 0,04 bC	0,43 ± 0,05 cB	0,60 ± 0,05 bA	21,65 b
PD	0,06 ± 0,02 aB	0,16 ± 0,03 bB	0,26 ± 0,02 bB	0,28 ± 0,02 cA	0,38 ± 0,05 cA	13,32 c
CV	0,05 ± 0,02 aC	0,15 ± 0,01 bC	0,27 ± 0,04 bC	0,43 ± 0,04 cB	0,66 ± 0,10 bA	25,33 b
MW	0,08 ± 0,01 aD	0,23 ± 0,05 aC	0,25 ± 0,07 aC	0,73 ± 0,13 aB	0,92 ± 0,16 aA	34,98 a
S	0,11 ± 0,01 aD	0,25 ± 0,03 aC	0,39 ± 0,03 aC	0,53 ± 0,06 bB	0,62 ± 0,07 bA	21,30 b
C	0,17 ± 0,01 aA	0,22 ± 0,01 aA	0,25 ± 0,03 bA	0,32 ± 0,00 cA	0,36 ± 0,02 cA	7,92 c
K	0,09 ± 0,01 aB	0,21 ± 0,03 aB	0,26 ± 0,01 bA	0,33 ± 0,05 cA	0,33 ± 0,02 cA	10,00 c
SH	0,13 ± 0,04 aC	0,28 ± 0,04 aB	0,37 ± 0,03 aB	0,51 ± 0,09 bA	0,62 ± 0,13 bA	20,32 b
CP	0,04 ± 0,01 aB	0,07 ± 0,01 bB	0,07 ± 0,02 cB	0,21 ± 0,03 cA	0,26 ± 0,03 cA	9,35 c
HR	0,11 ± 0,01 aC	0,23 ± 0,05 aC	0,39 ± 0,02 aB	0,33 ± 0,20 bA	0,71 ± 0,06 bA	25,00 b

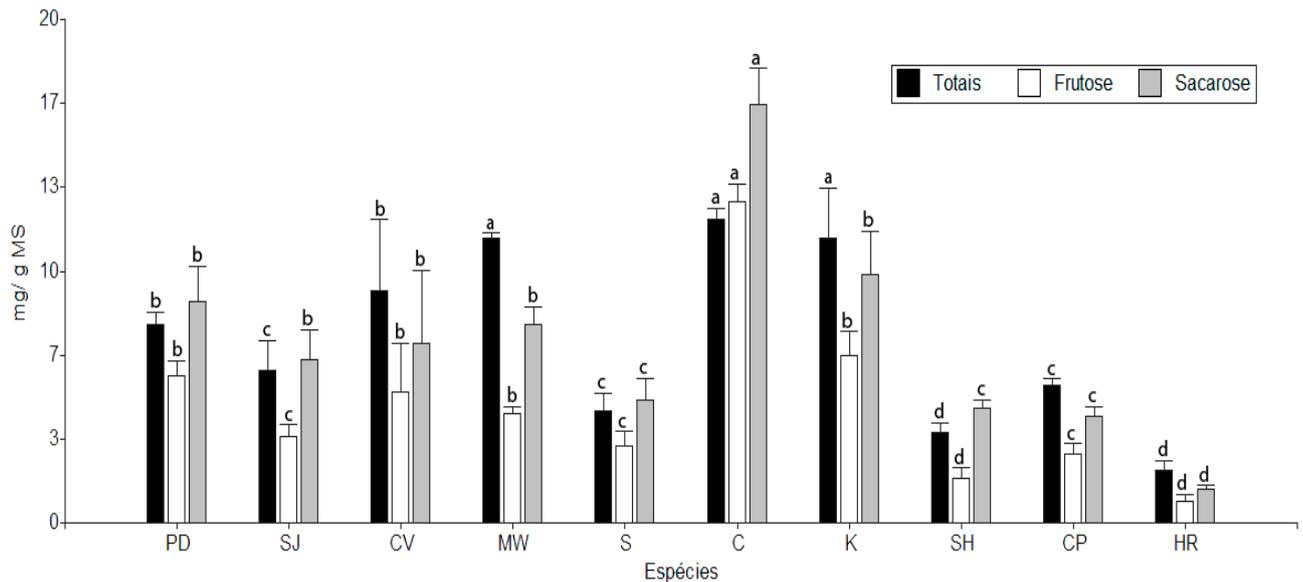
PD = *Pediastrum duplex*; SJ = *Scenedesmus javanensis*; CV = *Chlorella vulgaris*; MW = *Microcystis wesenbergii*; S = *Scenedesmus* sp.; C = *Chlorococcum* sp.; K = *Kirchneriella* sp.; SH = *Staurastrum hirsutum*; CP = *Crucigeniella pulchra*; HR = *Hariotina reticulata*. Valores seguidos por letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Letras minúsculas (a, b, c) comparam as espécies entre si por dia, enquanto letras maiúsculas (A, B, C e D) comparam a mesma espécie em relação ao tempo de cultivo. Média ± DP (n = 4).

3.2 Carboidratos totais solúveis, frutose, sacarose e amido

As maiores concentrações de carboidratos totais solúveis, ao final do experimento, foram encontradas nas espécies *Chlorococcum* sp. (12 mg/g MS), *Kirchneriella* sp. (11,3 mg/g MS) e *M. wesenbergii* (11,3 mg/g MS), sem diferença significativa entre si. A biomassa de *Chlorococcum* sp. também apresentou as maiores concentrações, estatisticamente significativas, de frutose (12,7 mg/g MS) e sacarose (16,6 mg/g MS) (Figura 03).

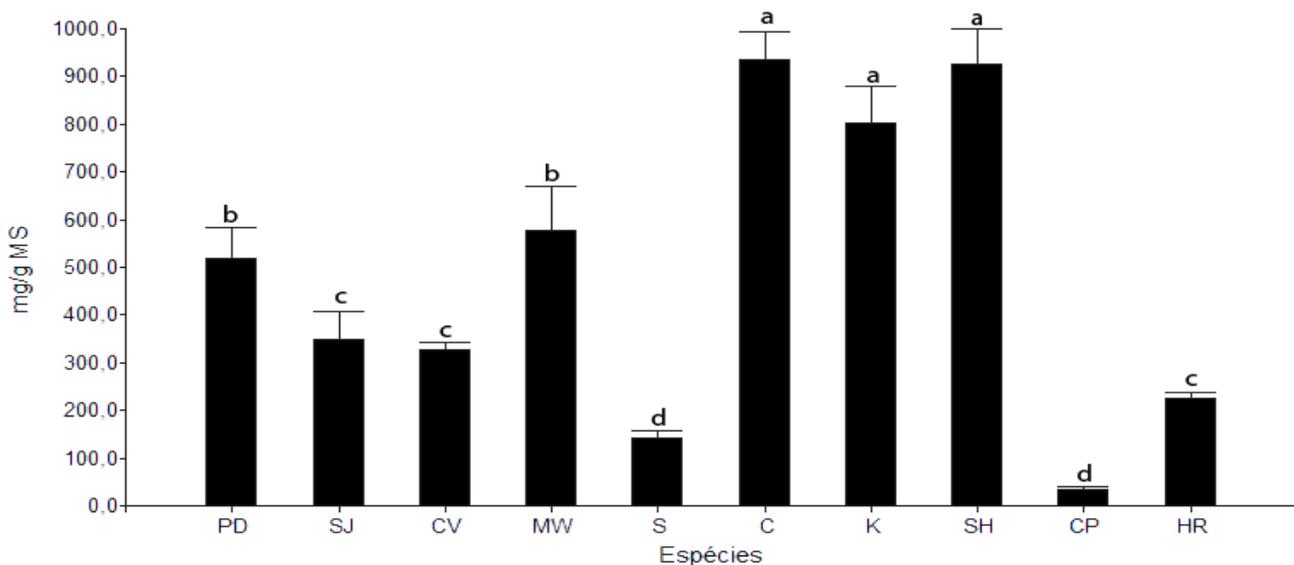
Elevadas concentrações de amido foram observadas em *Chlorococcum* sp. (934 mg/ g MS), *S. hirsutum* (927 mg/g MS) e *Kirchneriella* sp. (803 mg/ g MS), essas sem diferenças significativas entre si. Valores intermediários de amido foram observados em *M. wesenbergii* (577 mg/ g MS) e *P. duplex* (518 mg/ g MS), também sem diferença significativa entre si (Figura 04).

Figura 03 - Concentração de carboidratos totais hidrossolúveis, frutose e sacarose (mg/g MS) na biomassa final das espécies cultivadas



PD = *Pediastrum duplex*; SJ = *Scenedesmus javanensis*; CV = *Chlorella vulgaris*; MW = *Microcystis wesenbergii*; S = *Scenedesmus* sp.; C = *Chlorococcum* sp.; K = *Kirchneriella* sp.; SH = *Staurastrum hirsutum*; CP = *Crucigeniella pulchra*; HR = *Hariotina reticulata*. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Média e DP (n = 4).

Figura 04 - Concentração de amido (mg/g MS) na biomassa final das espécies cultivadas

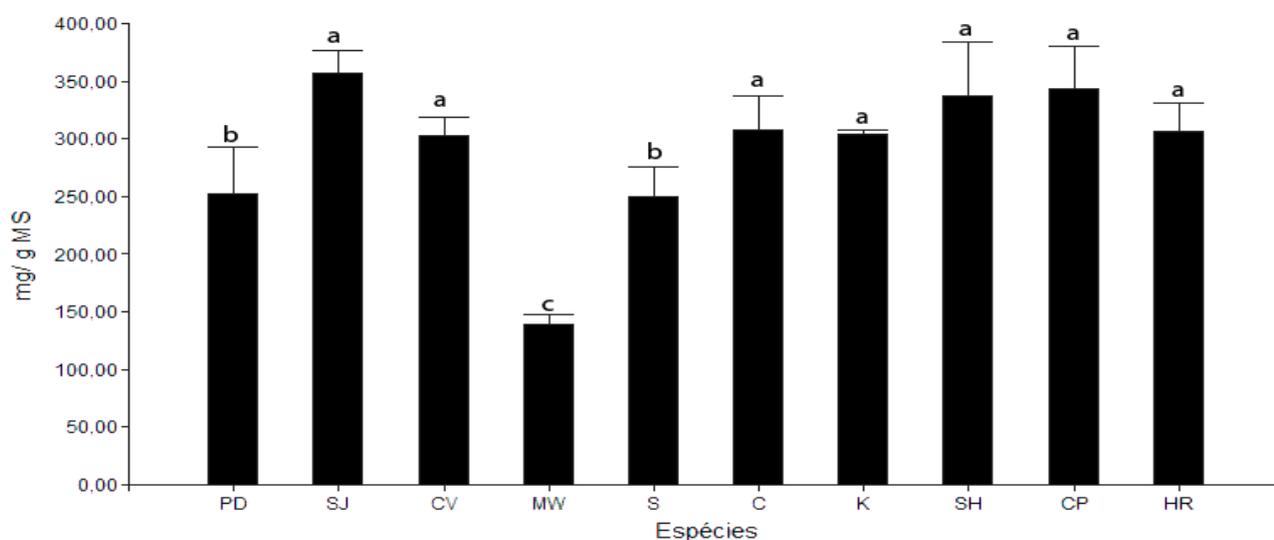


PD = *Pediastrum duplex*; SJ = *Scenedesmus javanensis*; CV = *Chlorella vulgaris*; MW = *Microcystis wesenbergii*; S = *Scenedesmus* sp.; C = *Chlorococcum* sp.; K = *Kirchneriella* sp.; SH = *Staurastrum hirsutum*; CP = *Crucigeniella pulchra*; HR = *Hariotina reticulata*. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Média e DP (n = 3).

3.3 Proteínas totais solúveis

Os cultivos de *S. javanensis* (357 mg/g MS), *C. pulchra* (343 mg/ g MS), *S. hirsutum* (336 mg/g MS), *Chlorococcum* sp. (307 mg/g MS), *H. reticulata* (306 mg/g MS), *Kirchneriella* sp. (304 mg/ g MS) e *C. vulgaris* (303 mg/g MS) não diferiram estatisticamente entre si, em relação a concentração de proteínas totais solúveis (Figura 05). A menor concentração foi observada em *M. wesenbergii* (139 mg/g MS).

Figura 05 - Concentração de proteínas totais solúveis (mg/ g MS) na biomassa final das espécies cultivadas



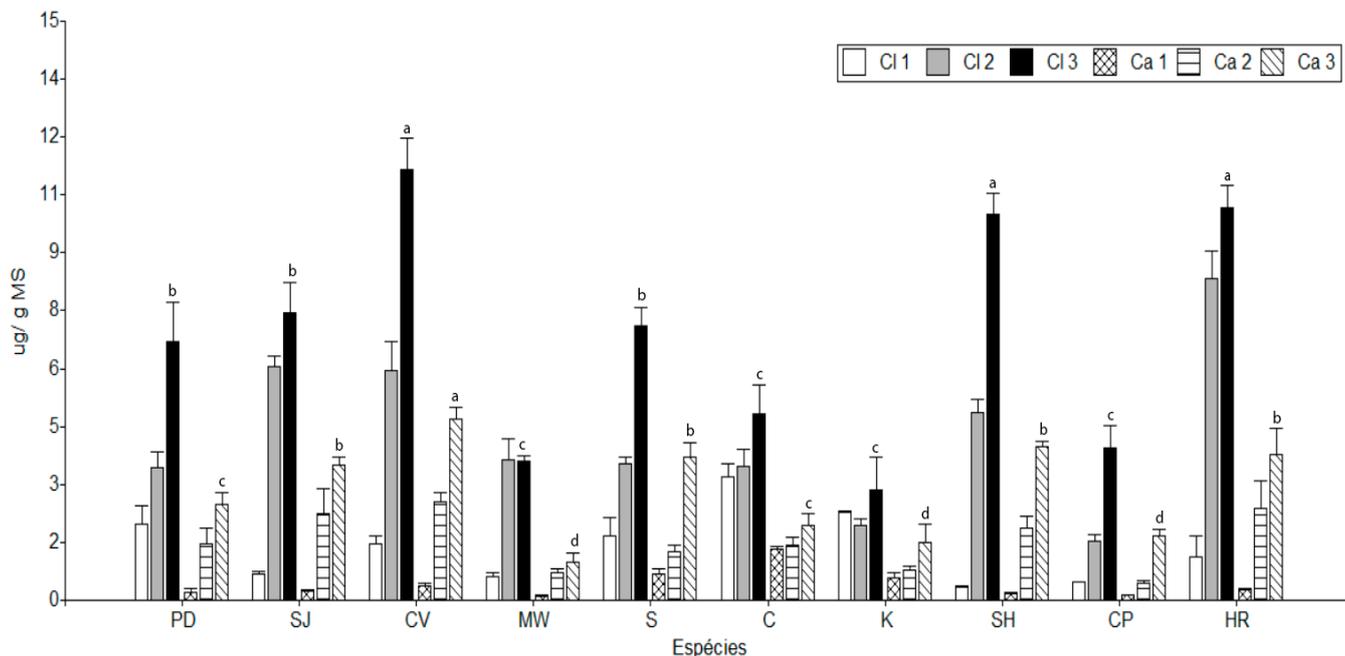
PD = *Pediastrum duplex*; SJ = *Scenedesmus javanensis*; CV = *Chlorella vulgaris*; MW = *Microcystis wesenbergii*; S = *Scenedesmus* sp.; C = *Chlorococcum* sp.; K = *Kirchneriella* sp.; SH = *Staurastrum hirsutum*; CP = *Crucigeniella pulchra*; HR = *Harriotina reticulata*. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Média e DP (n = 4).

3.4 Clorofila 'a' e carotenoides totais

O tempo de cultivo influenciou de forma significativa o acúmulo de clorofila 'a' ($F = 37.5320$) e carotenoides totais ($F = 17.2399$) em todas as espécies estudadas, alcançando concentração máxima desses pigmentos no 29º dia, com exceção para a cianobactéria *W. wesenbergii*, alcançando concentração máxima de clorofila 'a' ($3,6 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$) já no 27º dia de cultivo. *S. hirsutum* ($11,7 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$), *H. reticulata* ($10 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$) e *C. vulgaris* ($10,2 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$) apresentaram as maiores concentrações de clorofila 'a' ao final do cultivo, sem diferença significativa entre si (Figura 06). *C. vulgaris* ($4,7 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$) apresentou a maior concentração de carotenoides totais, seguida por *S. javanensis* ($3,5 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$),

Scenedesmus sp (3,7 $\mu\text{g}/\text{L}^{-1}$), *S. hirsutum* (3,9 $\mu\text{g}/\text{L}^{-1}$) e *H. reticulata* (3,8 $\mu\text{g}/\text{L}^{-1}$), essas sem diferenças significativas entre si.

Figura 06 - Concentração de clorofila 'a' e carotenoides totais, nos dias 05, 17 e 29 de cultivo.



Cl 1, Cl 2 e Cl 3 correspondem as análises de clorofila 'a' realizadas nos dias 05, 17 e 29 de cultivo, respectivamente, assim como Ca 1, 2 e 3 para carotenoides. PD = *Pediastrum duplex*; SJ = *Scenedesmus javanensis*; CV = *Chlorella vulgaris*; MW = *Microcystis wesenbergii*; S = *Scenedesmus* sp.; C = *Chlorococcum* sp.; K = *Kirchneriella* sp.; SH = *Staurastrum hirsutum*; CP = *Crucigeniella pulchra*; HR = *Hariotina reticulata*. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Médias e DP ($n = 4$).

4 DISCUSSÃO

4.1 Crescimento e massa seca

Quando em cultivo, o crescimento das microalgas sofre influência de diversos fatores físicos, químicos e fisiológicos (intensidade luminosa, temperatura, concentração de nutrientes, pH, fotoperíodo, características intrínsecas de cada espécie, entre outros) que agem de maneira individual ou em conjunto causando efeitos diversos nas diferentes espécies (ARKRONRAT et al., 2016).

No presente estudo, nenhuma das 10 espécies cultivadas apresentou fase de adaptação ao crescimento (lag) quando inoculadas ao novo meio de cultura, evidenciando que os inóculos estavam aclimatados às condições experimentais empregadas, mantendo-se na fase exponencial de crescimento (log) a partir do dia 01 (LOURENÇO, 2006). Com

exceção da cianobactéria *W. wesenbergii*, que a partir do 27º dia de cultivo mostrou indícios de entrada na fase de crescimento estacionária ou de transição, todas as 09 espécies da Classe Chlorophyceae permaneceram na fase log ao final dos 29 dias de cultivo.

A avaliação dos parâmetros cinéticos do crescimento (r , k e G) permite comparar o crescimento de diferentes espécies submetidas a uma mesma condição experimental (LOURENÇO, 2006). Os dados levantados indicam que durante a fase log de crescimento os cultivos de *W. wesenbergii* e *Scenedesmus* sp., aumentaram sua densidade celular a uma taxa maior de crescimento, com mais duplicações por dia de cultivo e, conseqüentemente, exigindo menos dias para que a população duplique de tamanho em relação as demais espécies. Quando comparadas, estima-se que *S. hirsutum* necessitaria, de aproximadamente, o dobro do tempo que *W. wesenbergii* e *Scenesmus* sp. para duplicar sua densidade populacional.

No presente estudo, espécies com menor densidade celular como *S. hirsutum* e *H. reticulata*, apresentaram produtividade em biomassa igual ou superior àquelas encontradas em espécies com maior densidade celular. Características como o tamanho e a complexidade das formas de reprodução influenciam no crescimento e na produção em biomassa. Espécies de tamanho reduzido apresentam crescimento elevado, devido a relação área/volume, a qual facilita a absorção de nutrientes do meio (ARKRONRAT et al., 2016), o que não está diretamente relacionado ao aumento em biomassa. Outros fatores como o fotoperíodo, também influenciam no acúmulo em biomassa. *Chlorella salina* apresentou maior produção de biomassa quando cultivada em 12:12h de luz/escuro (0,411 g/L) em relação a 18:6h luz/escuro (0,366 g/L) (CHONG et al., 2019), enquanto *Botryococcus braunii* e *Scenedesmus obliquus* obtiveram maior produtividade quando cultivadas em 24h de luz (155 e 150 mg/L/dia, respectivamente) em relação ao seu cultivo em 12:12 de luz/escuro (34 e 50 mg/L/dia) (KRZEMINSKA et al., 2013).

O cultivo em escala laboratorial, é um fator limitante em termos de produtividade quando comparado a cultivos realizados em fotobiorreatores, Ho e colaboradores (2013), cultivando *C. vulgaris* alcançaram valores máximos de biomassa (4,42 g/L) e produtividade (210,5 mg/L/dia) em fotobiorretatores com ureia como fonte de nitrogênio, enquanto Ho e colaboradores (2017), registraram para *S. obliquus*, também cultivado em fotobiorreator, produtividade de biomassa de 408,4 mg/L/dia.

4.2 Composição bioquímica

A concentração dos principais componentes bioquímicos em microalgas varia de acordo com a espécie estudada, as condições de cultivo, fase de crescimento e condições fisiológicas das culturas, assim como diferentes protocolos adotados podem gerar diferenças nos resultados alcançados (NICCOLAI et al., 2019). Ao comparar diferentes estudos, esses fatores devem ser levados em consideração.

Os carboidratos constituem uma fração importante da biomassa microalgal, por sua vez, esses são constituídos por monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos (de reserva: amido e glicogênio; e estruturais: celulose, hemicelulose e pectina) (TANG et al., 2016). Os açúcares provenientes da biomassa de microalgas tem se mostrado adequados para a produção de biocombustíveis renováveis (bioetanol), uso na alimentação animal e humana, produção de fármacos e suplementos (RAJVANSHI et al., 2019).

O conteúdo de carboidratos totais solúveis da biomassa das microalgas analisadas é similar e/ou maior que o encontrado em *Scenedesmus obliquus* (3,3 mg/g MS) e *Pseudopediastrum boryanum* (4,36 mg/g MS), quando cultivados a 20°C (MILITÃO et al., 2019) e *Haematococcus pluvialis* (fase vegetativa) (1,3 mg/g MS) (MOLINO et al., 2018). No entanto, estão abaixo das registradas em literatura para outras espécies de microalgas estudadas (3 – 64% MS) (LUM et al., 2013; MOLINO et al., 2018; KENT et al., 2015). Niccolai e colaboradores (2019), em seu trabalho sobre a composição bioquímica de 12 microalgas, dentre elas *C. vulgaris* (5,9% MS), observaram concentração de carboidratos entre 5 e 36% MS, variando a concentração de nitrogênio disponível nos meios de cultura. Valores mais expressivos foram registrados por Matos e colaboradores (2016) para *C. vulgaris* (27% MS) e *Spirulina platensis* (21% MS), uma cianobactéria filamentosa. *Chlorococcum* sp., quando cultivada sob limitação de nitrogênio, pode produzir até 34% de carboidratos por grama de MS (REHMAN e ANAL, 2019).

Foi avaliada a concentração de frutose (monossacarídeo) e sacarose (dissacarídeo) na biomassa das 10 microalgas cultivadas no presente estudo. Observou-se variação no acúmulo desses compostos entre as diferentes espécies para frutose (0,83 a 12,75 mg/g MS) e sacarose (1,29 a 16,60 mg/g MS). *Chlorococcum* sp. acumulou em média duas vezes mais frutose (12,75 mg/g MS) e sacarose (16,6 mg/g MS) que as demais espécies avaliadas. Trabalhos que avaliem as concentrações de frutose e sacarose na biomassa de microalgas são desconhecidos, até o momento. Muitos estudos (VELU et al., 2015;

HAMED e KI, 2014; SHYAM e SARAMMA, 2017) avaliaram a utilização desses sacarídeos como fonte de carbono orgânico no cultivo heterotrófico e mixotrófico de microalgas, destacando o papel desses compostos como fonte de energia para a célula.

Microalgas são capazes de acumular quantidades substanciais de polissacarídeos em sua biomassa, devido a essa característica e ao avanço nas tecnologias de produção, esses microrganismos passaram a ser considerados, nos últimos anos, potencial fonte de matéria prima para a produção de bioetanol por fermentação (RAJVANSHI et al., 2019; BHALAMURUGAN et al., 2018; MENETREZ, 2012). São exemplos de microalgas comumente utilizadas para a produção de bioetanol *Chlorella* sp., *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorococcum* sp., *Scenedesmus* sp. e *Spirulina fusiformes* (BHALAMURUGAN et al., 2018).

A concentração de amido nas biomassas microalgais analisadas foi similar ou maior que os valores encontrados em literatura. Hirano e colaboradores (1998) estudando a produção de bioetanol em *C. vulgaris*, observaram concentração de amido igual a 37% MS. Tibbetts e colaboradores (2015b) encontraram concentração menor de amido em *C. vulgaris* (15,4% MS), *Micractinium reisseri* (19,3% MS), *Nannochloris bacillaris* (1,3% MS) e *Tetracystis* sp. (1,5% MS). Outras microalgas que tiveram seu conteúdo de amido avaliado foram *Scenedesmus* sp. (8-9% MS) (TIBBETTS et al., 2015a), *Chlorella salina* (9,19% MS) (CHONG et al., 2019), *Chlorella sorokiniana* (16,24% MS) e *Chlorella ermerstonii* (13% MS) (TAKESHITA et al., 2014).

A diferença na concentração de amido e carboidratos totais encontradas nas diferentes espécies estudadas pode estar relacionada às diferentes fases do ciclo de vida em que se encontrava cada cultura. Branyikova e colaboradores (2011), observaram que a concentração de amido em *C. vulgaris* era maior (46% MS) antes do primeiro ciclo de divisões celulares e durante a divisão celular (13% MS) em relação as culturas antes e durante o segundo ciclo de divisões (26 e 7% MS, respectivamente). Xu e colaboradores (2016), também observaram um aumento na concentração de amido em *Dunaliella salina* nos períodos de luz e um decréscimo nos períodos de escuro.

Embora não quantificadas no presente estudo, as reservas de amido de *C. vulgaris*, e possivelmente as demais espécies da Classe Chlorophyceae, contêm β -1,3-glucano, molécula responsável por estimular a resposta imune, combater o câncer e promover resistência a doenças infecciosas (RAJVANSHI et al., 2019). Essa propriedade tem o

potencial de aumentar o valor econômico da biomassa de algas como ingrediente funcional para a alimentação. (TIBETTES et al., 2015b)

Embora haja diferenças significativas na composição bioquímica entre as Classes, espécies e cepas de microalgas, de acordo com as condições de cultivo a que estão submetidas, usualmente, apresentam proteínas como biomoléculas em maior concentração, seguidas por lipídeos e carboidratos (BECKER, 2013). A alta quantidade de proteínas e a presença de aminoácidos essenciais como histidina e fenilalanina, são fatores que levam esses microrganismos a serem considerados potenciais fontes de alimento para animais e humanos (KENT et al., 2015; BECKER, 2013).

Os valores de proteínas totais solúveis encontrados, para as espécies analisadas no presente estudo (13 – 36% MS), estão de acordo com a literatura. Para espécies como *C. vulgaris* (28,9% MS) e *Scenedesmus* sp. (28% MS), diversos autores registraram concentrações acima do observado. Molino e colaboradores (2018), analisaram o conteúdo proteico de *C. vulgaris* (45,6% MS), *Scenedesmus almeriensis* (13% MS) e *Arthrospira platensis* (47% MS). Matos e colaboradores (2016), estudaram o teor de proteínas em *C. vulgaris* (41,4% MS), *Nannochloropsis oculata* (42% MS) e *Porphyridium cruentum* (35,4% MS). Kent e colaboradores (2015), registraram 30,9% de proteínas por grama de MS em *Scenedesmus* sp., enquanto Militão e colaboradores (2019), registraram para *Scenedesmus obliquus* e *Pseudopediastrum boryanum* teores de 67,3% de proteínas por grama de MS.

Já é sabido que alterações nas condições de cultivo, afetam a composição bioquímica das microalgas (BECKER, 2013; LOURENÇO, 2006). *C. vulgaris* pode produzir até 60,38% de proteína por grama MS quando cultivada em meio enriquecido com nitrogênio, e esse valor decai para 21,09% MS quando seu cultivo é realizado em meio com déficit desse nutriente (HO et al., 2013). Mudanças na temperatura também alteram a concentração de proteínas na biomassa. A diminuição de 30 para 20°C provoca aumento na concentração de proteínas de 46,7% MS para 67,3% MS em *P. boryanum* (MILITÃO et al., 2019).

Pigmentos naturais, além da sua função no metabolismo fotossintético, possuem importantes benefícios biológicos para humanos e animais (D’ALESSANDRO et al., 2016). Clorofila ‘a’ apresenta atividades antioxidantes (PANGESTUTI e KIM, 2011), anti-inflamatórias (BECKER, 2013) e diminuição do risco de câncer colorretal (BALDER et al., 2006). Da mesma forma carotenoides como o B-caroteno, precursor da

vitamina A, e a astaxantina, apresentam atividades antioxidantes, antimutagênicas (MILLEDGE, 2011; BEGUN et al., 2015) e anticancerígenas (JAYAPPRIYAN et al., 2013). Aliado ao fato de que microalgas são cultiváveis durante todo o ano, esses microrganismos são considerados potencial fonte de clorofila e carotenoides (RAJVANSHI et al., 2019).

No entanto, os dados obtidos no presente estudo estão abaixo do encontrado em literatura para espécies comumente utilizadas para obtenção de pigmentos. Kent e colaboradores (2015) registrou valores de clorofilas totais e carotenoides, respectivamente, em *Nannochloropsis* sp. (30,5 e 8,6 mg/g MS), *Scenedesmus* sp. (19 e 4,2 mg/g MS) e *Dunaliella* sp. (23,6 e 5,12 mg/g MS). Molino e colaboradores (2018) registraram, 34,6 e 28,7 mg/g MS de carotenoides totais na biomassa de *Dunaliella salina* e *Haematococcus pluvialis*, respectivamente.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A grande biodiversidade de microalgas encontradas nos ambientes brasileiros e em coleções de cultivo, precisam de avaliação em termos de potenciais aplicações e segurança antes da sua exploração nos setores da alimentação animal e humana. O presente estudo prove informações a respeito da cinética de crescimento e da composição bioquímica da biomassa de dez microalgas, que podem ser exploradas, futuramente, para fins biotecnológicos.

Microalgas isoladas a partir de tanques de pisciculturas, com destaques para *Chlorococcum* sp., *Chlorella vulgaris* e *Kirchneriella* sp. analisadas no presente estudo, podem ser consideradas fontes promissoras de biomassa para matéria prima utilizada na complementação da alimentação animal, onde a ração é o principal insumo, podendo chegar a até 80% do custo de produção. No entanto, estudos a respeito da qualidade nutricional, digestibilidade, conteúdo de fibras, vitaminas, minerais e outros bioativos devem ser considerados.

O elevado teor de amido encontrado nas espécies estudadas, sobretudo em *Scenedesmus* sp, *Chlorococcum* sp. e *S. hirsutum*, indica ainda, potencial utilização dessa biomassa na produção de bioetanol.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, L.I.V.; GASPAR, M.; COSTA, P.M.F.; AIDAR, M.P.M.; BUCKERIDGE, M.S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, v. 34, p. 425-431, 2007.

ARKRONRAT, W.; DEEMARK, P.; ONIAM, V. Growth performance and proximate composition of mixed cultures of marine microalgae (*Nannochloropsis* sp. & *Tetraselmis* sp.) with monocultures. **Songklanakarin J. Sci. Technol.**, Tailândia, v. 1, n. 38, p.1-5, 2016.

ASLAM, A. et al. Biorefinery of Microalgae for Nonfuel Products. **Microalgae Cultivation For Biofuels Production**, [s.l.], p.197-209, 2020. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-817536-1.00013-8>.

BALDER, H.F.; VOGEL, J.; JANSEN, M.C.; WEIJENBERG, M.P.; VAN DEN BRANDT, P.A.; WESTENBRINK, S.; VAN DER MEER, R.; GOLDBOHM, R.A. Heme and chlorophyll intake and risk of colorectal cancer in the Netherlands cohort study. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.** 15: 717– 725, 2006.

BALDISSEROTTO, B. Freshwater fish culture in Rio Grande do Sul State: actual situation, problems and future perspectives. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p.291-299, 2009.

BECKER, W. Microalgae for human and animal nutrition. In: A. RICHMOND and Q. HU, eds. **Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology**. 2nd ed. United Kingdom: John Wiley & Sons, pp. 461-503, 2013. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118567166.ch25>.

BEGUM, H.; YUSOFF, F.M.D.; KHATOON, H.; SHARIF, M. Availability and Utilization of Pigments from Microalgae. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 56, n. 13, p.2209-2222, 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2013.764841>.

BHALAMURUGAN, G.L.; VALERIE, O.; MARK, L. Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review. **Environmental Engineering Research**, [s.l.], v. 23, n. 3, p.229-241, 2018. Korean Society of Environmental Engineering. <http://dx.doi.org/10.4491/eer.2017.220>.

BICUDO, C.E.M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do brasil**: Chave para identificação e descrições. 3. ed. São Carlos: Rima, 2017.

BOROWITZKA, M.A. High-value products from microalgae, their development and commercialisation. **Journal of Applied Phycology**, [s.l.], v. 25, n. 3, p.743-756, 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>.

BRABO, M.F. et al. Current scenario of fish production in the world, Brazil and Pará State: emphasis on aquaculture. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, Pará, v. 4, n. 2, p.50-58, 2016.

BRÁNYIKOVÁ, I.; MARSA Microalgae-novel highly efficient starch producers. **Biotechnology and Bioengineering**, [s.l.], v. 108, n. 4, p.766-776, 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bit.23016>.

CHONG, J.F. et al. Two-stage cultivation of the marine microalga *Chlorella salina* for starch and carbohydrate production. **Aquaculture International**, [s.l.], v. 27, n. 5, p.1269-1288, 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10499-019-00385-3>.

D'ALESSANDRO, E.B.; ANTONIOSI FILHO, N.R. Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s.l.], v. 58, p.832-841, 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.162>.

DI'RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. InfoStat versión 2012. InfoStat Group, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method form Determination of Sugars and Related Substances. **Nature**, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 350 - 356, 1956

FOGG, G.E.; THAKE, B. **Algae Cultures and Phytoplankton Ecology**. 3. ed. London: University of Wisconsin Press, p. 269, 1987.

GE, HONGXING et al. Effect of microalgae with semicontinuous harvesting on water quality and zootechnical performance of white shrimp reared in the zero water exchange system. **Aquacultural Engineering**, [s.l.], v. 72-73, p.70-76, 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.04.006>.

GORHAM, P.R.; MCLACHLAN, R.; HAMMER, U. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena*, flos-aquae Breb. **Int. Ver. Theor. Angew.Limnol.Verh.**, v. 19, p. 796–804, 1964.

GUILLARD, R.R.L.; MORTON, S.L. **Culture Methods**. In: Manual on Harmful Marine Microalgae. UNESCO, Paris, p. 77-97, 2003.

HAMED, S.M.; KL, G. Improvement of medium composition and utilization of mixotrophic cultivation for green and blue green microalgae towards biodiesel production. **Advances in Micro.**, v. 4, n. 3, 2014.

HIRANO, ATSUSHI et al. CO₂ fixation and ethanol production with microalgal photosynthesis and intracellular anaerobic fermentation. **Energy**, Hiroshima, v. 22, n. 3, p.137-142, 1997.

HO, SHIH-HSIN et al. Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 135, p.157-165, 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.100>.

HO, SHIH-HSIN et al. Feasibility of CO₂ mitigation and carbohydrate production by microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N used for bioethanol fermentation under

outdoor conditions: effects of seasonal changes. **Biotechnology For Biofuels**, [s.l.], v. 10, n. 1, p.1-13, 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13068-017-0712-5>.

HUNTLEY, M.E. et al. Demonstrated large-scale production of marine microalgae for fuels and feed. **Algal Research**, [s.l.], v. 10, p.249-265, 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.016>.

JAYAPPRIYAN, K.R.; RAJKMAR, R.; VENKATAKRISHNAN, V.; NAGARAJ, S.; RENGASAMY, R. In vitro anticancer activity of natural β -carotene from *Dunaliella salina* EU5891199 in PC-3 cells. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.99-105, 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bionut.2012.08.003>.

JERMYN, M.A. A new method for the determination of ketohexoses in presence of aldohexoses. **Nature**, v. 177, p. 38-39, 1956.

KENT, M.; WELLADSIN, H.M.; MANGOTT, A.; LI, Y. Nutritional Evaluation of Australian Microalgae as Potential Human Health Supplements. **Plos One**, [s.l.], v. 10, n. 2, p.1-14, 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0118985>.

KIRON, V.; PHROMKUNTHONG, W.; ARCHIBALD, I.; SCHEEMAKER, G. Marine microalgae from biorefinery as a potential feed protein source for Atlantic salmon, common carp and whiteleg shrimp. **Aquaculture Nutrition**, [s.l.], v. 18, n. 5, p.521-531, 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00923.x>.

KRZEMIŃSKA, I.; PAWLIK-SKOWRONSKA, B.; TRZCINSKA, M.; TYS, J. Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [s.l.], v. 37, n. 4, p.735-741, 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-013-1044-x>.

LOURENÇO, S.O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

LUM, K.K.; KIM, J.; LEI, X. Dual potential of microalgae as a sustainable biofuel feedstock and animal feed. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.1-7, 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/2049-1891-4-53>.

MATOS, Â.P.; FELLER, R.; MOECKE, E.H.S.; OLIVEIRA, J.V.; JUNIOR, A.F.; DERNER, R.B.; SANT'ANNA, E.S. Chemical Characterization of Six Microalgae with Potential Utility for Food Application. **Journal of The American Oil Chemists' Society**, [s.l.], v. 93, n. 7, p.963-972, 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-016-2849-y>.

MENETREZ, M.Y. “An overview of algae biofuel production and potential environmental impact.” **Environmental Science & Technology**. 46 (13):7073–7085, 2012.

MILITÃO, F.P.; FERNANDES, V.O.; BASTOS, K.V.; COLEPICOLO, P.; MARTINS, A.P.; MACHADO, L.P. Nutritional value changes in response to temperature, microalgae mono and mixed cultures. **Acta Limnologica Brasiliensia**, [s.l.], v. 31, p.1-12, 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s2179-975x7118>.

MILLEDDGE, J. “Commercial application of microalgae other than as biofuels: A_ brief review.” **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**. 10 (1):31–41, 2011.

MOLINO, A.; LOVINE, A.; CASELLA, P.; MEHARYA, S.; CHIANESE, S.; CERBONE, A.; RIMAURO, J.; MUSMARRA, D. Microalgae Characterization for Consolidated and New Application in Human Food, Animal Feed and Nutraceuticals. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s.l.], v. 15, n. 11, p.2436-2456, 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph15112436>.

NICCOLAI, A.; ZITTELLI, G.C.; RODOLFI, L.; BIONDI, N.; TREDICI, M.R. Microalgae of interest as food source: Biochemical composition and digestibility. **Algal Research**, [s.l.], v. 42, p.1-9, 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2019.101617>.

PANGESTUTI, R.; KIM, S. Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 3, n. 4, p.255-266, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2011.07.001>.

RAJVANSHI, M.; SAGARAM, U.S.; SUBHASH G.V.; KUMAR, G.R.K.; GOVINDACHARY, S.; DASGUPTA, S. Biomolecules from Microalgae for Commercial Applications. **Sustainable Downstream Processing of Microalgae For Industrial Application**, [s.l.], p.3-38, 2019. CRC Press. <http://dx.doi.org/10.1201/9780429027970-1>.

REHMAN, Z.U.; ANAL, A.K. Enhanced lipid and starch productivity of microalga (*Chlorococcum* sp. TISTR 8583) with nitrogen limitation following effective pretreatments for biofuel production. **Biotechnol Rep**, 21(1-8), 2019.

RIAZI, A.; MATSUDA, K.; ARSLAN, A. Water-stress induced changes in concentrations of proline and other solutes in growing regions of young barley leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 36, p. 1716-1725, 1985.

SEBRAE. **Aquicultura no Brasil: Série estudos mercadológicos**. 2015. Disponível em: <[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/\\$File/5403.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/$File/5403.pdf)>. Acesso em: 30 dez. 2019.

SHYAM KUMAR, S.; SARAMMA, A.V. Effect of Organic Carbon Compounds on the Growth and Pigment Composition of Microalga - *Nannochloropsis salina*. **International Journal of Applied Environmental Sciences**, Ernakulam, v. 12, n. 9, p.1707-1719, 2017.

SMITH, J.L.; BOYER, G.L.; ZIMBA, P.V. A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: Impacts and management alternatives in aquaculture. **Aquaculture**, [s.l.], v. 280, n. 1-4, p.5-20, 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.007>.

STEIN, J.R. Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements. Cambridge University Press, 448p, 1975.

TAKESHITA, T.; OTA, S.; YAMAZAKI, T.; HIRATA, A.; ZACHLEDER, V.; KAWANO, S. Starch and lipid accumulation in eight strains of six *Chlorella* species under comparatively high light intensity and aeration culture conditions. *Bioresour Technol* 158:127–134, 2014.

TANG, Y.; ROSENBERG, J.N.; BOHUTSKYI, P.; YU, G.; BETENBAUGH, M.J.; WANG, F. Microalgae as a feedstock for biofuel precursors and value-added products: Green fuels and golden opportunities. **BioRes.** 11(1), 2850-2885, 2016.

TIBBETTS, S.M.; MELANSON, R.J.; PARK, K.C.; BANSKOTA, A.H.; STEFANOVA, R.; MCGINN, P.J. Nutritional evaluation of whole and lipid-extracted biomass of the microalga *Scenedesmus* sp. AMDD isolated in Saskatchewan, Canada for animal feeds: Proximate, amino acid, fatty acid, carotenoid and elemental composition. **Current Biotechnology**, 4(4), 530-546, 2015a. <http://dx.doi.org/10.2174/2211550104666150827201854>.

TIBBETTS, S.M.; WHITNEY C.G.; MACPHERSON, M.J.; BHATTI, S.; BANSKOTA, A.H.; STEFANOVA, R.; MCGINN, P.J. Biochemical characterization of microalgal biomass from freshwater species isolated in Alberta, Canada for animal feed applications. **Algal Research**, [s.l.], v. 11, p.435-447, 2015b. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2014.11.011>.

VELU, P.; PETER, M.J.; SANNIYASI, E. Effect of Various Carbon Sources on Biochemical Production in Marine Microalgae *Nannochloropsissalina* (Eustigmatophyceae), *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) and *Tetraselmis suecica* (Chlorodendrophyceae). **Inter. J Cur. Micr. and App. Sci.**, 4 (3), 207-215, 2015.

XU, X.; IBRAHIM, I.M.; HARVEY, P.J. The influence of photoperiod and light intensity on the growth and photosynthesis of *Dunaliella salina* (chlorophyta) CCAP 19/30. **Plant Physiol Biochem**, 106:305–315, 2016.

CAPÍTULO 3 – Perfil lipídico de microalgas associadas a piscicultura para aplicações biotecnológicas

Autores: Frederico Pacheco Militão^{1*} • Levi Pompermayer Machado² • Valéria de Oliveira Fernandes¹

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Do Estado de São Paulo, Departamento de Engenharia de Pesca, CEP 11900-000, Registro, SP, Brasil.

*Autor para correspondência: fredericomilitao@gmail.com

Artigo a ser submetido para a revista “Algal research”. Guide lines: <https://www.elsevier.com/journals/algal-research/2211-9264?generatepdf=true>

RESUMO

O presente estudo buscou avaliar, em escala laboratorial, o potencial do perfil de ácidos graxos de ésteres metílicos de microalgas crescidas naturalmente em sistemas de pisciculturas para identificar potenciais aplicações comerciais, com foco principal na suplementação alimentar de humanos e rações animais. Os cultivos foram realizados em erlenmeyers de 3L, contendo 2,5 litros de meio ASM1, para cianobactérias, e BBM para clorofíceas, mantidos em estufas ajustadas a temperatura de 23 °C, fotoperíodo de 12/12h (luz/escuro) com iluminância máxima de 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O cultivo foi do tipo batelada, sem aspersão direta de CO_2 , pH inicial de $7 \pm 0,05$ e aeração constante de 3,5 L/min de ar. Os cultivos foram realizados em quadruplicada em meio ASM1 (Cyanophyta) (GORHAM et al., 1964) e BBM (Chlorophyta) (STEIN, 1975), com inóculo inicial de $3,0 \times 10^5 \text{ Cel/mL}^{-1}$. As espécies *S. javanensis* (14,1%), *P. duplex* (12,9%), *Scenedesmus* sp. (11,5%), *Chlorococcum* sp. (10,7%), *S. hirsutum* (12%), *H. reticulata* (11,5%) e *Kirchneriella* sp (10,9%) apresentaram maior teor de lipídeos totais (por biomassa seca) quando comparados com as espécies *C. pulchra* (7,1%), *C. vulgaris* (7,8%), *M. wesenbergii* (7,6%), não diferindo estatisticamente entre si ($F = 9,92$, $p < 0,01$). *Chlorococcum* sp. (52,3%), *Kirchneriella* sp. (54,6%) e *S. javanensis* (42,2%) tem sua fração lipídica constituída majoritariamente por ácidos graxos saturados. Por sua vez, *H. reticulata* (40,6%) tem em maior concentração ácidos graxos tri-insaturados e *C. vulgaris* não apresenta diferença significativa entre os teores de ácidos graxos tri (42,1%) e poli-insaturados (41,7%). A presença de ácidos graxos essenciais no perfil lipídico torna a biomassa dessas microalgas, principalmente *Kirchneriella* sp. e *H. reticulata*, promissora para uso na suplementação alimentar e de rações para peixes cultivados em pisciculturas.

Palavras-chave: Lipídeos, ácidos graxos, microalgas, alimentação, alimentação animal.

ABSTRACT

The present study aims to evaluate, on a laboratory scale, the potential of the fatty acid profile of methyl esters of microalgae naturally grown in association with fish farms to identify potential commercial applications, with a main focus on human and animal feed supplementation. The cultures were carried out in 3L Erlenmeyer flasks containing 2.5 liters of ASM1 medium for cyanobacteria and BBM for chlorophytes, kept in incubators adjusted to a temperature of 23 °C, photoperiod of 12 /12h (light/dark) with maximum illuminance of 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The cultivation was of the batch type, without direct spraying of CO₂, initial pH of 7 ± 0.05 and constant aeration of 3.5 L/min of air. Cultures were performed in quadruplicate in ASM1 (Cyanophyta) (GORHAM et al., 1964) and BBM (Chlorophyta) (STEIN, 1975) culture media. The species *S. javanensis* (14.1%), *P. duplex* (12.9%), *Scenedesmus* sp. (11.5%), *Chlorococcum* sp. (10.7%), *S. hirsutum* (12%), *H. reticulata* (11.5%) and *Kirchneriella* sp. (10.9%) had a higher percentage of total lipids (by dry biomass) when compared to the species *C. pulchra* (7.1%), *C. vulgaris* (7.8%), *M. wesenbergii* (7.6%), not statistically different from each other ($F = 9.92$, $p < 0.01$). *Chlorococcum* sp. (52.3%), *Kirchneriella* sp. (54.6%) and *S. javanensis* (42.2%) have their lipid fraction composed mostly by saturated fatty acids. In turn, *H. reticulata* (40.6%) has a higher concentration of tri-unsaturated fatty acids and *C. vulgaris* does not indicates a significant difference between the components of tri-unsaturated (42.1%) and poly-unsaturated (41, 7%). The presence of essential fatty acids in the lipid profile makes the microalgae's biomass, mainly *Kirchneriella* sp. and *H. reticulata*, promising for use in food and feed supplementation for fish in fish farms.

Keywords: Lipids, fatty acids, microalgae, food, animal feed.

1 INTRODUÇÃO

Microalgas são microrganismos capazes de converter carbono inorgânico, nutrientes e luz em compostos de relevância comercial como proteínas, carboidratos, vitaminas, aminoácidos, ácidos graxos poli-insaturados e pigmentos (DERNER; OHSE; VILLELA, 2006; MARCHETTI et al., 2012). Por esse motivo, o cultivo de microalgas vem recebendo bastante atenção nas últimas décadas. Os lipídeos microalgais são ricos em triglicerídeos e são considerados a próxima fonte de matéria prima para a produção de biocombustíveis, sendo essa a linha de pesquisa mais estudada (CHISTI, 2007; MARTIN et al., 2014).

Os óleos produzidos pelas microalgas são ainda fonte de nutrientes essenciais comumente requeridos na alimentação humana e animal (MOREIRA et al., 2002; MUHLROTH et al., 2013). A presença de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, como o ácido eicosapentaenóico (EPA), ácido docosahexanóico (DHA), ácido araquidônico (AA) e seus precursores são de grande interesse por seus efeitos benéficos na prevenção de doenças cardiovasculares, sobretudo aqueles da família dos ômega 3 (DRAAISMA et al., 2013).

Um dos maiores problemas do cultivo comercial de microalgas é a quantidade excessiva de água limpa e nutrientes necessários para a obtenção de biomassa algal (MURPHY e ALLEN, 2011). Estima-se que aproximadamente 6.000 L de água são consumidos por litro de óleo de algas produzido nos sistemas de lagoas abertas (OZKAN et al., 2012).

A maior fonte de óleos ômega 3/ ômega 6 na alimentação humana, são os peixes provenientes da pesca selvagem, no entanto, o aumento populacional e consequente aumento na demanda desse produto faz com que a atividades como a piscicultura cresçam cada vez mais a fim de evitar a pesca excessiva em ambientes naturais (ADARME-VEGA et al., 2014; SPRAGUE et al., 2016). Entretanto, peixes criados em sistemas de piscicultura normalmente precisam de suplementação de ácidos graxos para uma síntese eficiente de EPA, DHA e AA durante o cultivo (ADARME-VEGA et al., 2014).

No Brasil a produção de peixe em sistemas de piscicultura vem aumentando a cada ano. Em 2015 dados do IBGE apontam um crescimento de 1,5% em relação a 2014, com a produção de 483 mil toneladas de peixe (BRASIL, 2017). O consumo também segue

essa tendência, passando de 6,15 para 14,4 kg/hab/ano, entre os anos de 1999 e 2015, respectivamente (BRASIL, 2017; SEBRAE, 2015).

A suplementação alimentar requerida em excesso, por meio de rações ricas em nitrogênio, fósforo e proteínas, associado as condições ambientais favoráveis contribuem para a eutrofização dos tanques e para a proliferação de microalgas, que pode trazer prejuízos (SMITH *et al.*, 2008). Estudos indicam que 66% do fósforo usado na alimentação intensiva em peixes vão para o sedimento, 11% ficam dissolvidos na água e 23% são incorporados pelos animais (ALVES; BACARIN, 2005).

Por esse motivo, o objetivo do presente estudo foi avaliar, em escala laboratorial, o potencial do perfil de ácidos graxos de ésteres metílicos de microalgas, associadas com pisciculturas, para identificar potenciais aplicações comerciais, com foco principal na suplementação alimentar de humanos e rações animais.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção das cepas

As espécies de microalgas foram isoladas, por meio de pipetagem e diluições sucessivas (LOURENÇO, 2006), a partir de amostras coletadas dos tanques de piscicultura, com auxílio de uma rede de plâncton (BICUDO e MENEZES, 2017), localizados na cidade de Registro (24°29'25.6"S 47°49'40.1"W), no estado de São Paulo, Brasil. Após isolamento as cepas foram mantidas sob condições adequadas no Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais (LATEAC) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Desta forma, 10 espécies distribuídas em 9 gêneros e duas Divisões diferentes, foram selecionadas para aumento de biomassa e cultivo em escala laboratorial, sendo os táxons: *Scenedesmus javanensis*, *Pediastrum duplex*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., *Chlorococcum* sp., *Staurastrum hirsutum*, *Kirchneriella* sp., *Crucigeniella pulchra*, *Hariotina reticulata* (todas da Divisão Chlorophyta) e *Microcystis wesenbergii* (Cyanophyta).

2.2 Condições de cultivo

Os cultivos foram realizados em erlenmeyers de 3L, contendo 2,5 litros de meio ASM1, para cianobactérias, e BBM para clorofíceas, mantidos em estufas (Eletrolab, EL 202/3; Brasil) ajustadas a temperatura de 23 °C, fotoperíodo de 12/12h (luz/escuro) com iluminância máxima de 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O cultivo foi do tipo batelada, sem aspersão direta de CO₂, pH inicial de $7 \pm 0,05$ e aeração constante de 3,5 L/min de ar. Os cultivos foram realizados em quadruplicada em meio ASM1 (Cyanophyta) (GORHAM et al., 1964) e BBM (Chlorophyta) (STEIN, 1975), com inóculo inicial de $3,0 \times 10^5$ Cel/mL⁻¹. com exceção do cultivo de *S. hirsutum*, espécie com crescimento mais lento, o qual foi de 3250 Cel/mL⁻¹, mantidas as proporções.

Uma sequência pré-determinada de rodízio dos erlenmeyers nas estufas incubadoras foi estabelecida para garantir a uniformidade das condições de cultivo. O experimento teve duração de 29 dias.

2.3 Lipídeos totais e perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos

Os lipídeos foram extraídos usando o método descrito por Bligh & Dyer (1959). O macerado liofilizado foi suspenso em tampão PBS e, em seguida, adicionou-se 42 mL da solução contendo o padrão interno, composto por 5 mg/mL de tritridecanoína em hexano (C13:0, T3882 Sigma), e 4,15 mL de clorofórmio, metanol e água, na proporção de 2:2:1. A mistura foi centrifugada e a fase clorofórmica foi transferida para outro frasco e seca sob atmosfera de N₂ (g). O conteúdo total de lipídeos foi determinado gravimetricamente e o resíduo de gordura foi transmetilado para a avaliação do conteúdo de ácidos graxos.

A reação de metilação dos ácidos graxos a ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME; fatty acid methyl ester) foi feita dissolvendo-se o extrato seco de lipídeos em 500 mL de BF₃ (7% em metanol) e a mistura foi incubada por 1h a 100 °C. Após o término da reação, deixou-se esfriar a temperatura ambiente, adicionou-se 1,25 mL de água e extraiu-se os FAME com 500 mL de hexano.

Os FAME foram analisados por CG-EM, em coluna capilar de sílica fundida (VF-Wax, com dimensões de 30 mm, 0,25 mm, 0,25 mm de espessura do filme, Agilent). A temperatura de injeção foi de 220 °C, volume de 1 L, no modo Split. Utilizou-se hélio

como gás de arraste, com um fluxo de 1 mL.min⁻¹, e a seguinte rampa de temperatura: temperatura inicial de 60 °C, com aumento de 5 °C por min, até 260 °C, mantidos por 10 min.

O padrão utilizado para a identificação dos picos foi o Supelco 37 (47885-U). Os ácidos graxos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões e/ou por comparação de seus espectros de massa com espectros da biblioteca (NIST). Os FAME que não constavam no padrão e que apresentaram índice de similaridade abaixo de 90% não foram considerados.

A quantificação da maioria dos FAME foi feita com a equação da reta da curva padrão do respectivo FAME do padrão Supelco 37. Para os FAME que não constavam no padrão supelco, a quantificação foi feita considerando a concentração do padrão interno (C13:0), uma vez que área do pico é proporcional a concentração de FAME.

2.4 Análises estatísticas

Os dados obtidos nas análises de lipídeos totais e de ácidos graxos foram submetidos a análise de normalidade de Shapiro-Wilk; os dados paramétricos foram submetidos a análise de variância ANOVA e ao teste *a posteriori* de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. O programa utilizado para a realização dos testes foi o InfoStat versão 2019e (DI RIENZO et al., 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Lipídeos totais e perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos

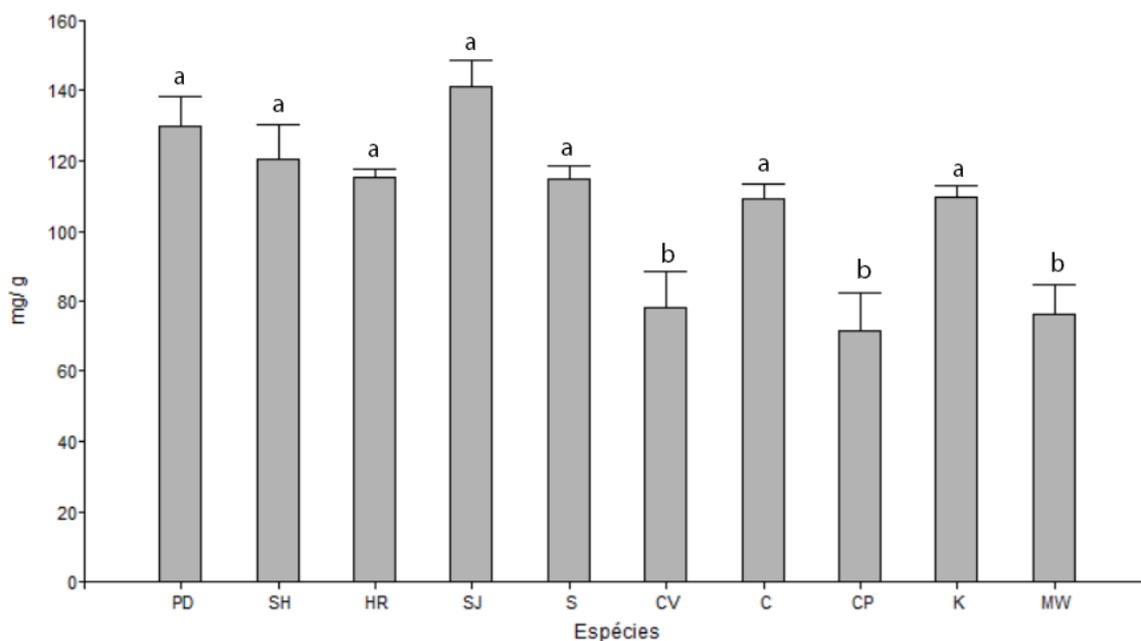
O perfil bioquímico da biomassa das cepas varia de acordo com a composição do meio de cultura e espécies isoladas (BARTEN et al., 2020). As concentrações dos lipídeos totais (LT), perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) e sua composição, encontradas nas cinco cepas de microalgas estudadas estão ilustradas na Figura 01, Tabela 01 e Figura 02, respectivamente.

Como evidenciado na Figura 01, as espécies *S. javanensis* (14,1%), *P. duplex* (12,9%), *Scenedesmus* sp. (11,5%), *Chlorococcum* sp. (10,7%), *S. hirsutum* (12%), *H. reticulata* (11,5%) e *Kirchneriella* sp. (10,9%) apresentaram maior teor de LT (por biomassa seca) quando comparados com as espécies *C. pulchra* (7,1%), *C. vulgaris* (7,8%), *M. wesenbergii* (7,6%), não diferindo estatisticamente entre si ($F = 9,92$, $p < 0,01$).

A condição genética das cepas avaliadas e sobretudo suas necessidades nutricionais para completar seus diferentes ciclos de vida, podem contribuir para um maior acúmulo de lipídeos na biomassa microalgal (AHIAHONU et al., 2021), devido ao esgotamento acelerado do nitrogênio no meio de cultura em cultivos de cepas com crescimento elevado (PARICHEHREH et al., 2019). Diversos estudos concluem que o consumo dos nutrientes, principalmente nitrogênio, disponíveis no meio de cultura e sua exaustão ativam uma série de sinais bioquímicos que levam ao maior acúmulo de lipídeos na maioria das microalgas verdes (GONG e JIANG, 2011; PARICHEHREH et al., 2019; AHIAHONU et al., 2021).

Com isso, pode-se considerar que o metabolismo da microalga é governado primariamente pela concentração de nitrogênio disponível, podendo levar a conversão da fração proteica em outros compostos bioquímicos, incluindo lipídeos, quando em concentrações de N menores que 3 mg/L^{-1} (HUANG et al., 2021). Isso porque, a privação de nitrogênio do meio de cultura causa a redução no conteúdo das membranas dos tilacóides, que leva ao aumento na atividade enzimática da acil-CoA hidrolase e subsequente hidrólise dos fosfolipídios, aumentando a concentração extracelular de acetil-CoA. Ao mesmo tempo ocorre a ativação da enzima diacilglicerol aciltransferase, responsável pela conversão da acetil-CoA em triacilglicerol (TAG) (GONCALVES et al., 2016; PARICHEHREH et al., 2019).

Figura 01. Concentração de lipídeos totais (mg/ g de MS) de dez cepas de algas cultivadas em escala laboratorial.



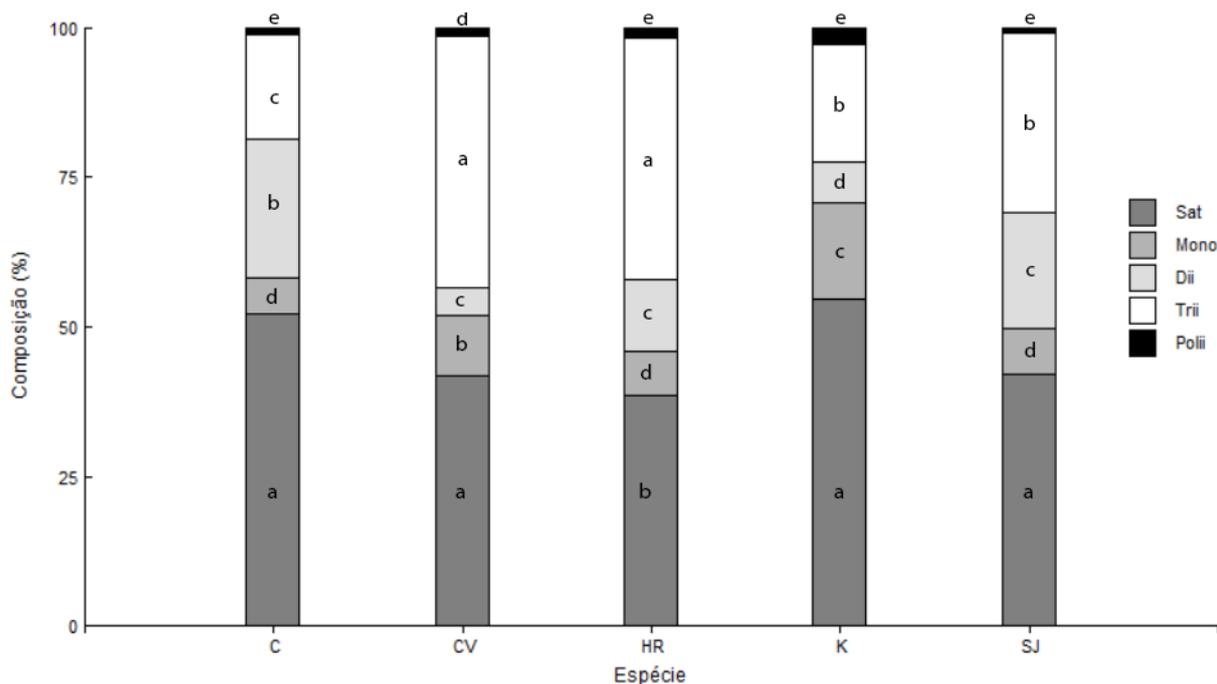
PD = *Pediastrum duplex*; SJ = *Scenedesmus javanensis*; CV = *Chlorella vulgaris*; MW = *Microcystis wesenbergii*; S = *Scenedesmus* sp.; C = *Chlorococcum* sp.; K = *Kirchneriella* sp.; SH = *Staurastrum hirsutum*; CP = *Crucigeniella pulchra*; HR = *Hariotina reticulata*. Letras minúsculas comparam as concentrações de LT entre as espécies. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Média e DP (n = 4). MS – Massa seca.

Valores de LT próximos aos do presente estudo foram registrados para as espécies *Pseudopediastrum boryanum* (96,3 mg/ g ou 9,6%) e *Scenedesmus obliquus* (95,5 mg/ g ou 9,5%) (MILITÃO et al., 2019), *C. vulgaris* (9,6% – 15,9%) (EL-SHEEKH et al., 2019), *S. platensis* (8% - 9%) (SHALABY et al., 2010), *Tetrademus obliquus* (11,9%), *T. lagerheimii* (12,7%), *C. vulgaris* (13,7%), *Chlorella minutíssima* (17,8%) e *Chlamydomonas* sp. (10,3%) (SONKAR e MALLICK, 2018). Outros trabalhos, sob diferentes condições de cultivo, utilizando *Scenedesmus* sp. (20,9%) (SONMEZ et al., 2016), *Chlorococcum* sp. (11,2% - 17,5%) (KIRAN et al., 2015), *C. vulgaris* (26,5%) (KOH et al., 2019) e *Chlorella* sp. (31,2% - 40,2%) (BILIN et al., 2013) registraram valores acima dos encontrados no presente estudo, indicando que, sob as condições em que foram cultivadas, as células não estão utilizando toda a sua capacidade para a síntese de lipídeos (PARICHEHREH et al., 2019).

Levando em consideração os parâmetros de crescimento, a composição bioquímica (Capítulo 2) e o teor de LT das cepas cultivadas no presente estudo, cinco cepas foram

selecionadas para análise do perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME), sendo *S. javanensis*, *C. vulgaris*, *Chlorococcum* sp., *Kirchneriella* sp., *H. reticulata*. O teor de insaturações e o perfil dos FAMES das cepas selecionadas estão descritos nas Figura 02 e Tabela 01, respectivamente.

Figura 02. Teor (% do total de AG) de ácidos graxos saturados (Sat), monoinsaturados (Mono), Di-insaturados (Dii), Tri-insaturados (Trii) e poli-insaturados (Polii).



C = *Chlorococcum* sp.; CV = *Chlorella vulgaris*; HR = *Hariotina reticulata*; K = *Kirchneriella* sp.; SJ = *Scenedesmus javanensis*. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Letras minúsculas comparam as concentrações de Sat, Mono, Dii, Trii e Polii na mesma espécie. Média (n = 4).

O perfil de FAMES varia significativamente entre as espécies de microalgas e nas cepas analisadas o perfil é constituído em sua maioria por ácidos graxos saturados, tri-insaturados, di-insaturados, monoinsaturados e poli-insaturados, respectivamente, com algumas exceções. *Chlorococcum* sp. (52,3%), *Kirchneriella* sp. (54,6%) e *S. javanensis* (42,2%) tem sua fração lipídica constituída majoritariamente por ácidos graxos saturados. Por sua vez, *H. reticulata* (40,6%) tem em maior concentração ácidos graxos tri-insaturados e *C. vulgaris* não apresenta diferença significativa entre os teores de ácidos graxos tri (42,1%) e poli-insaturados (41,7%), Figura 02.

Tabela 01. Composição de ésteres metílicos de ácidos graxos (% do total de FAME) extraídos da biomassa microalgal cultivada em laboratório.

FAME	C	CV	HR	K	SJ
(C14) Mirístico	3,16 ± 2,8	4,93 ± 0,4	4,51 ± 0,2	1,82 ± 0	0,60 ± 0,1
(C15)	0,32 ± 0	0,37 ± 0	0,29 ± 0	0,56 ± 0	0,26 ± 0
(C16) Palmítico	28,63 ± 1,1	32,60 ± 0,9	29,62 ± 0,7	46,11 ± 0,1	35,75 ± 0,7
(C16:1 Δ 9) Palmitoléico	2,26 ± 0,2	1,65 ± 0,1	1,73 ± 0,1	3,65 ± 0,1	1,35 ± 0,1
(C17)	0,37 ± 0	0,61 ± 0	0,28 ± 0	0,61 ± 0	0,49 ± 0
(C17:1 Δ 11)	0,31 ± 0	-	-	-	-
(C18) Esteárico	1,33 ± 0,2	2,27 ± 0	1,89 ± 0	4,21 ± 0,2	2,36 ± 0,1
(C18:1 Δ 9) Oleico	3,16 ± 0,5	8,40 ± 0,1	5,22 ± 0	12,22 ± 0,3	6,10 ± 0
(C18:2 Δ 9, 12) Linoléico	23,03 ± 0,6	4,41 ± 0,1	11,65 ± 0,3	5,93 ± 0	18,96 ± 0,3
(C21)	18,01 ± 0,7	0,41 ± 0,5	1,51 ± 0,5	-	2,38 ± 0,1
(C18:3 Δ 9, 12, 15) a -Linolênico	-	0,30 ± 0	0,50 ± 0	1,00 ± 0	0,50 ± 0
(C18:3 Δ 6, 9, 12) g -Linolênico	17,69 ± 0,3	42,10 ± 0,2	40,57 ± 0	19,52 ± 0	30,05 ± 0,6
(C20:1 Δ 11)	0,27 ± 0	0,11 ± 0,1	0,21 ± 0,5	0,25 ± 0	0,16 ± 0
(C22)	0,19 ± 0,2	-	-	-	-
(22:1) Erúcido	-	-	0,25 ± 0,3	-	-
(C23)	0,33 ± 0	0,58 ± 0	0,26 ± 0	1,36 ± 0	0,33 ± 0
(20:4 Δ 5, 8, 11, 14) Araquidônico	0,82 ± 0	0,82 ± 0	0,97 ± 0	1,34 ± 0	0,43 ± 0
(C20:5 Δ 5, 8, 11, 14, 17) EPA	0,16 ± 0	0,50 ± 0	0,55 ± 0	1,45 ± 0	0,31 ± 0
Σ SAT	52,28 ± 0,7 a	41,75 ± 0,2 b	38,39 ± 0,6 c	54,65 ± 0,3 a	42,18 ± 0,7 b
Σ MONO	6,03 ± 0,4 c	10,16 ± 0,2 c	7,41 ± 0,5 b	16,12 ± 0,2 c	7,61 ± 0,1 c
Σ POLII	41,69 ± 0,3 b	48,08 ± 0,3 a	54,20 ± 0,3 a	29,23 ± 0,1 b	50,21 ± 0,3 a
Total de Ácidos Graxos (mg/ g MS)	36,90 ± 4 a	15,60 ± 0,8 c	19,42 ± 1 b	20,43 ± 0,6 b	20,47 ± 0,9 b

C = *Chlorococcum* sp.; CV = *Chlorella vulgaris*; HR = *Hariotina reticulata*; K = *Kirchneriella* sp.; SJ = *Scenedesmus javanensis*. Letras minúsculas comparam as concentrações dos FAME entre as espécies. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Média e DP (n = 4).

Teores similares foram observadas em outras microalgas estudadas para fins alimentícios como por exemplo, *Picochlorum* sp., *Tetraselmis* sp., *Dunaliella* sp., *Synechococcus* e *Leptolyngbya* sp. que apresentam em sua composição ácidos graxos saturados (29,12%, 44,74%, 38,96%, 52,1% e 44,7%), monoinsaturados (6,9%, 13,4%, 7,5%, 22,4%, 38,1%) e poli-insaturados (64%, 41%, 53,5%, 20,4%, 17,3%), respectivamente (BARTEN et al., 2020).

O teor elevado de ácidos graxos com insaturações torna a biomassa dessas espécies potenciais fontes para a produção de óleos comestíveis (BARTEN et al., 2020). Sobretudo em *C. vulgaris* (48,1%), *H. reticulata* (54,2%) e *S. javanensis* (50,2%) que

apresentam teores de ácidos graxos com duas ou mais insaturações em concentrações elevadas, Tabela 01.

No entanto, o teor elevado de ácidos graxos saturados na fração lipídica de *Chlorococcum* sp. (52,3%) e *Kirchneriella* sp. (54,6%), os quais em sua maioria são nutrientes não essenciais e que consumidos em excesso podem aumentar o nível de colesterol LDL no sangue, juntamente com o baixo teor de ácidos graxos monoinsaturados, consideradas fontes de energia de fácil digestão, podem comprometer o uso da biomassa para fins de alimentação animal e humana (TIBBETTS et al., 2015; HUANG et al., 2016). A fim de melhorar a composição de FAMES da biomassa microalgal, alterações podem ser realizadas em suas condições de cultivo. Estudos indicam que microalgas cultivadas em altas temperaturas, comumente apresentam ácidos graxos saturados de cadeia curta em teor elevado, por necessitar de menor fluidez da membrana lipídica, característica dada pela presença dos ácidos graxos insaturados (BARTEN et al., 2020). Cultivos realizados em baixas temperaturas também favorecem o aumento da concentração total de ácidos graxos, como observado por Militão e colaboradores (2019).

Os FAMES encontrados em maiores concentrações na fração lipídica das microalgas analisadas foram os ácidos graxos palmítico (28,65 – 46,1%), g-linolênico (17,7% - 42,1), linoleico (4,4% - 23%) e oleico (3,1% – 12,2%). Os ácidos graxos Heptadecenóico (C17:1 Δ 11) e Docosanóico (C22:0), só foram registrados na biomassa da microalga *Chlorococcum* sp. (0,31% e 0,2%, respectivamente), enquanto que o ácido Erúico (22:1) só foi registrado em *H. reticulata* (0,25%).

O ácido graxo palmítico (C16), encontrado em quantidades elevadas nas biomassas algais, é o produto final da enzima sintetase de ácido graxo, podendo ser alongado para ácido esteárico (C18), importante para a síntese de ácidos graxos poli-insaturados (MOREIRA et al., 2002). Outros ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa observados em teores elevados como o ácido araquidônico (AA, C20:4 n6), eicosapentaenóico (EPA, C20:5 n3), linoleico (AL, C18:2 n6), α -linolenico (AAL, C18:3 n3) e g-linolênico (AGL, C18:3 n6) são considerados nutrientes essenciais, importantes componentes da dieta humana e animal (MUHLROTH et al., 2013; UMMALYNA et al., 2018), e, portanto, os óleos produzidos a partir dessa biomassa microalgal podem vir a ser usados na suplementação de alimentos e rações.

Concentrações similares de ácidos graxos aos do presente estudo foram registradas para *Chlorococcum* sp. (AL: 7,6-37,9%) (UMMALYNA et al., 2018), *Chroococcidiopsis* sp. (AL: 0,5-0,8%), *Tetraselmis subcordiformis* (AL: 10-15%; EPA: 0,12-0,5%), *Leptolyngbya* sp. (AL: 4-14,1%), *Picochlorum maculatum* (AL: 17-24%; EPA: 0,6-1,1%) (SCHIPPER et al., 2019), *Pavlova lutheri* (AL: 0,7-3%; AGL: 0,2-0,8%; EPA: 8,7-20,5%; AA: 0,2-1,7%) (GUIHENEUF e STENGEL, 2017), *S. obliquus* (AL: 11-22%; AGL: 0,4-1,4%) e *P. boryanum* (AL: 8,5-18,8%; AGL: 15,8-27,4%) (MILITÃO et al., 2019).

Óleos vegetais utilizados na alimentação humana, como o óleo de soja (AL: 48,9%; AAL: 5,1%) e óleo de girassol (AL: 59,4%; AAL: 0,3%) (SPRAGUE et al., 2016), apresentam teores elevados de ácidos graxos ômega 6 e baixos teores de ácidos ômega 3, quando comparado às microalgas.

Nas células animais o AL é alongado e dessaturado, passando pelo AGL, ao ácido dihomo-g-linolênico (20:3 n6) que é posteriormente dessaturado ao AA (MOREIRA et al., 2002). O AA e o EPA, sintetizado a partir do ácido α -linolênico (C18:3 n3), encontrados nas membranas das células podem ser metabolizados em eicosanóides, hormônios como as prostaglandinas e os tromboxanos, envolvidos na modulação de intensidade da resposta imune, além de serem agentes pró inflamatórios, agregadores plaquetários, vasoconstritores (AA) e vasodilatadores (EPA) (MOREIRA et al., 2002; MUHLROTH et al., 2013).

Nesse processo, os AA e EPA competem pelas mesmas enzimas lipoxigenases e cicloxigenases, e seu consumo deve respeitar uma proporção de ômega 6/ômega 3 (n6/n3) de aproximadamente 4:1 reduzindo o risco de doenças crônicas cardiovasculares, câncer colorretal, câncer de mama, desordens imunológicas e asma (MARTIN et al., 2006; SIMOPOULOS, 2004). Ainda em animais, o consumo de concentrações adequadas de AA e EPA, ou seus precursores, nos primeiros estágios de vida são importantes para o desenvolvimento visual e cognitivo, além de efeitos positivos contra infecções virais, bacterianas e fúngicas (MUHLROTH et al., 2013).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Microalgas crescem naturalmente nos tanques de piscicultura devido ao aporte excessivo de nutrientes e condições ambientais adequadas, trazendo prejuízo para os produtores, como a mortalidade dos peixes, e influenciando na qualidade final do pescado, devido a alterações no cheiro e sabor da carne. Por sua vez, peixes cultivados em sistemas artificiais comumente precisam de suplementação de ácidos graxos para melhor acumular EPA e DHA em sua biomassa. A presença de ácidos graxos essenciais no perfil lipídico torna a biomassa dessas microalgas, principalmente *Kirchneriella* sp. e *H. reticulata*, promissora para uso na suplementação alimentar e de rações para peixes cultivados em pisciculturas.

Alterações nas condições de cultivo pode favorecer a redução do teor de ácidos graxos saturados e o aumento da concentração de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados de cadeia longa da família dos ômega 3. Além disso, outras potencialidades da biomassa, com base em seus perfis de ésteres metílicos evidenciados no presente estudo, podem ser exploradas como, por exemplo, sua utilização nas indústrias do biodiesel.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHIAHONU, EK; ANKU, WW; ROOPNARAIN, A. Bioprospecting wild South African microalgae as a potential third-generation biofuel feedstock, biological carbon-capture agent and for nutraceutical applications. **Biomass Conv. Bioref.**, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01675-8>

ALVES, RCP; BACCARIN, AL. **Efeitos da produção de peixes em tanques-rede sobre sedimentação de material em suspensão e de nutrientes no Córrego da Arribada (UHE Nova Avanhandava), baixo rio Tietê.** In: Nogueira, M.G. et al., 2005. Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata. São Carlos: Rima, p. 329-347, 2005.

ARKRONRAT, W; DEEMARK, P; ONIAM, V. Growth performance and proximate composition of mixed cultures of marine microalgae (*Nannochloropsis* sp. &

Tetraselmis sp.) with monocultures. **Songklanakarín J. Sci. Technol.**, Tailândia, v. 1, n. 38, p.1-5, 2016.

BARTEN, RJ; WIJFFELS, RH; BARBOSA, MJ. Bioprospecting and characterization of temperature tolerant microalgae from Bonaire. *Algal Research*, v. 50:102008, 2020.

BICUDO, CEM; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil**: Chave para identificação e descrições. 3. ed. São Carlos: Rima, 2017.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37:911-917, 1959.

BRASIL. **Produção de peixes no Brasil cresce com apoio de pesquisas da Embrapa**. 2017. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/01/producao-de-peixes-no-brasil-cresce-com-apoio-de-pesquisas-da-embrapa>>. Acesso em: 30 set. 2021.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, p.294-307, 2007.

DERNER, RB; OHSE, S; VILLELA, M. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p.1959-1967, 2006.

DI'RIENZO, JA; CASANOVES, F; BALZARINI, MG; GONZALEZ, L; TABLADA, M.; ROBLEDO, CW. **InfoStat versión 2012**. InfoStat Group, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

DRAAISMA, RB; WIJFFELS, RH; SLEGGERS, PME; BRENTNER, LB; ROY, A; BARBOSA, MJ. Food commodities from microalgae. **Current Opinion in Biotechnology**, Netherlands, v. 24, p. 169-177, 2013.

EL-SHEEKH, M.M., GHEDA, S.F., EL-SAYED, A.EK.B. Outdoor cultivation of the green microalga *Chlorella vulgaris* under stress conditions as a feedstock for biofuel.

Environ. Sci. Pollut. Res., v. 26, p.18520–18532, 2019.
<https://doi.org/10.1007/s11356-019-05108-y>

GONCALVES, EC; WILKIE AC; KIRST M; RATHINASABAPATHI, B. Metabolic regulation of triacylglycerol accumulation in the green algae: identification of potential targets for engineering to improve oil yield. **Plant. Biotechnol. J.**, v. 14, p.1649–1660, 2016.

GONG, Y; JIANG, M. Biodiesel production with microalgae as feedstock: from strains to biodiesel. **Biotech Lett.**, v. 33, p.1269–1284, 2011.

GORHAM, PR; MCLACHLAN, RW; HAMMER, UT. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena, flos-aquae* Breb. **Int. Ver. Theor. Angew. Limnol. Verh.**, v. 19, p. 796–804, 1964.

GUIHÉNEUF, F; STENGEL, D B. Interactive effects of light and temperature on pigments and n-3 LC-PUFA-enriched oil accumulation in batch-cultivated *Pavlova lutheri* using high-bicarbonate supply. **Algal Research**, [s. l.], v. 23, p. 113-125, 2017.

HUANG, Y; ZHANG, D; XUE, S; WANG, M; CONG, M. The Potential of Microalgae Lipids for Edible Oil Production. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 1, p.1-14 (2016).

HUANG, Y; LOU, C; LUO, L; WANG, XC. Insight into nitrogen and phosphorus coupling effects on mixotrophic *Chlorella vulgaris* growth under stably controlled nutrient conditions. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 752, ed. 141747, p. 1-10, 2021.

MARCHETTI, J; BOUGARAN, G; LE-DEAN, L. Optimizing conditions for the continuous culture of *Isochrysis affinis galbana* relevant to commercial hatcheries, **Aquaculture**, v. 326, p.106–115, 2012.

KIRAN, B; PATHAK, K; KUMAR, R; DESHMUKH, D. Growth pattern and biofuel production potential of newly isolated microalga, *Chlorococcum* sp. IM-03 under

nitrogen limited conditions. **J Chem Technol Biotechnol**, Índia, v. 91, p. 1339-1344, 2015.

KOH, HG; KANG, NK; KIM, EK; SUH, WI; PARK, WK; LEE, B; CHANG, YK. Isolation and Characterization of Novel *Chlorella* Species with Cold Resistance and High Lipid Accumulation for Biodiesel Production. **J. Microbiol. Biotechnol.**, [s. l.], v. 29, ed. 6, p. 952-961, 2019.

LOURENÇO, SO. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

MARTIN, CA; ALMEIDA, VV; RUIZ, MR; VISENTAINER, JEL; MATSHUSHITA, M; SOUZA, NE; VISENTAINER, JV. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. **Revista de Nutrição**, v.19, p.761-770, 2006.

MARTIN, GJO; HILL, DRA; OLMSTEAD, ILD; BERGAMIN, A; SHEARS, MJ; DIAS, DA; KENTISH, SE; SCALES, PJ; BOTTE, CY; CALLAHAN, DL. Lipid profile remodeling in response to nitrogen deprivation in the microalgae *Chlorella* sp (Trebouxiophyceae) and *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). **Plos ONE**, v. 9, e103389, 2014.

MILITÃO, F P; FERNANDES, V O; BASTOS, K V; MARTINS, A P; COLEPICOLO, P; MACHADO, L P. Nutritional value changes in response to temperature, microalgae mono and mixed cultures. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Vitória, ES, v. 31, ed. 17, p. 1-11, 2019.

MOREIRA, NX; CURI, R; MANCINI FILHO, J. Fatty acids: a review. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, SP., v.24, p.105-123, 2002.

MUHLROTH, A; LI, K; ROKKE, G; WINGE, P; OLSEN, Y; HOHMANN-MARRIOTT, MF; VADSTEIN, O; BONES, AM. Pathways of lipid metabolism in marine algae, co-expression network, bottlenecks and candidate genes for enhanced

production of EPA and DHA in species of Chromista. **Mar. Drugs.**, v. 11, p.4662–4697, 2013.

MURPHY, CF; ALLEN, DT. Energy-water nexus for mass cultivation of algae. **Environ. Sci. Technol.**, v. 45, p.5861–5868, 2011.

OZKAN, A; KINNEY, K; KATZ, L; BERBEROGLU, H. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. **Bioresour. Technol.**, v. 114, p.542–548, 2012.

PARICHEHREH, R; GHESHLAGHI, R; MAHDAVI, MA; ELKAMEL, A. Optimization of lipid production in *Chlorella vulgaris* for biodiesel production using flux balance analysis. **Biochemical Engineering Journal**, Iran, v. 141, p. 131-145, 2019.

SCHIPPER, K; AL, MURAIKHI, M; ALGHASAL, GSHS. Potential of novel desert microalgae and cyanobacteria for commercial applications and CO₂ sequestration. **J. Appl. Phycol.**, v. 31, p. 2231–2243, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01763-3>

SEBRAE. **Aquicultura no Brasil: Série estudos mercadológicos**. 2015. Disponível em: <[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/\\$File/5403.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/$File/5403.pdf)>. Acesso em: 30 dez. 2019.

SHALABY, EA; SHANAB, SMM; SINGH, V. Salt stress enhancement of antioxidant and antiviral efficiency of *Spirulina platensis*. **Journal of Medicinal Plants Research**, Cairo, v. 4, ed. 24, p. 2622-2632, 2010.

SIMOPOULOS, AP. Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. **Food Rev Int.**, v. 20, p.77-90, 2004.

SMITH, JL; BOYER, GL; ZIMBA, PV. A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: Impacts and management alternatives in aquaculture. **Aquaculture**, [s.l.], v. 280, n. 1-4, p.5-20, 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.007>.

SONKAR, S; MALLICK, N. An alternative strategy for enhancing lipid accumulation in Chlorophycean microalgae for biodiesel production. **J. Appl. Phycol.**, v. 30, p. 2179–2192, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1419-0>

SONMEZ, C; ELCIN, E; AKIN, D; OKTEM, H A; YUCEL, M. Evaluation of novel thermo-resistant *Micractinium* and *Scenedesmus* sp. for efficient biomass and lipid production under different temperature and nutrient regimes. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 211, p. 422-428, 2016.

SPRAGUE, M; DICK, J; TOCHER, D. Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon, 2006–2015. **Sci. Rep.**, v. 6, n 21892, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep21892>

STEIN, J.R. Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements. Cambridge University Press, 448p, 1975.

TIBBETTS, SM; MELANSON, RJ; PARK, KC; BANSKOTA, AH; STEFANOVA, R; MCGINN, PJ. Nutritional Evaluation of Whole and Lipid-Extracted Biomass of the Microalga *Scenedesmus* sp. AMDD Isolated in Saskatchewan, Canada for Animal Feeds: Proximate, Amino Acid, Fatty Acid, Carotenoid and Elemental Composition. **Current Biotechnology**, v. 4, p.530-546, 2015.

UMMALYMA, SB; SUKUMARAN, RK; PANDEY, A. Evaluation of Freshwater Microalgal Isolates for Growth and Oil Production in Seawater Medium. **Waste Biomass Valor**, v. 11, p.223–230, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0393-8>

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS

As condições ambientais empregadas em cultivo afetam a composição bioquímica das microalgas cultivadas e o tipo morfológico da espécie pode influenciar na resposta metabólica adotada. O conhecimento e a manipulação destas variáveis, associado ao tipo morfológico da microalga cultivada, é uma forma efetiva para obtenção de biomassa com maior valor agregado, nutricional e comercial.

Microalgas que crescem naturalmente nos tanques de piscicultura são fontes de proteínas, carboidratos e ácidos graxos essenciais, além de nutrientes e vitaminas, tornando a biomassa desses organismos uma matéria prima promissora para exploração comercial, com uso na suplementação alimentar humana e de rações para peixes e outros animais.

Chlorococcum sp., *Chlorella vulgaris* e *Kirchneriella* sp. analisadas no presente estudo, podem ser consideradas para utilização na complementação da alimentação animal, onde a ração é o principal insumo. O elevado teor de amido encontrado nas espécies estudadas, sobretudo em *Scenedesmus* sp., *Chlorococcum* sp. e *S. hirsutum*, indica ainda, potencial utilização dessa biomassa na produção de bioetanol. Além disso, outras potencialidades da biomassa, com base em seus perfis de ésteres metílicos, podem ser exploradas como, por exemplo, sua utilização nas indústrias do biodiesel.

Por fim, indica-se que estudos que testem a viabilidade de consumo e de produção em escalas maiores sejam empregados, com base nas conclusões obtidas através da meta-análise sejam realizados.

ANEXOS

Tabela 01 – Principais características dos artigos incluídos na meta-análise.

Autores	Ano	Espécie	Classe	Divisão	Tipo morfológico	Medida*	Análise
Takagi et al.	2006	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Flagelado	Salinidade	Lipídeos
Widjaja et al.	2009	<i>Chlorella vulgaris</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N	Lipídeos
Fan et al.	2014	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N, P	Lipídeos
Yilancioglu et al.	2014	<i>Dunaliella salina</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Flagelado	N	Proteína
Ruangsomboon	2012	<i>Botryococcus braunii</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	Luz, N, P, salinidade	Lipídeos
Feng et al.	2012	<i>Chlorella zofingiensis</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N, P	Lipídeos
Feng et al.	2011	<i>Chlorella zofingiensis</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N	Lipídeos
Gorain et al.	2013	<i>C. vulgaris</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Salinidade	Lipídeos
Kaewkannetra et al.	2012	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	Salinidade	Lipídeos
		<i>S. obliquus</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	Salinidade	Lipídeos
		<i>Tetraselmis</i> sp.	Chlorodendrophyceae	Chlorophyta	Flagelado	Salinidade	Lipídeos, proteína, carboidrato
Khatoon et al.	2014	<i>Nannochloropsis</i> sp.	Eustigmatophyceae	Ochrophyta	Unicelular	Salinidade	Lipídeos, proteína, carboidrato
Wang et al.	2013	<i>S dimorphhus</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	N	Lipídeos
Liu et al.	2016	<i>Chlorella zofingiensis</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N, Luz	Lipídeos
Li et al.	2014	<i>Chlorella protothecoides</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	P, N	Lipídeos
Gris et al.	2014	<i>S. obliquus</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	Luz	Lipídeos, proteína, carboidrato
Markou et al.	2012	<i>Arthrospira platensis</i>	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Filamentosa	Luz, P	Lipídeos, proteína, carboidrato
Kalacheva et al.	2002	<i>B. braunii</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Tetrasporal	Temperatura	Lipídeos

*Nitrogênio (N) e fósforo (P).

Tabela 01 – Continuação.

Choi et al.	2011	<i>B. braunii</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Tetrasporal	N	Lipideos
Kim et al.	2016	<i>C. sorokiniana</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Salinidade	Lipideos
Sirvastava et al.	2017	<i>Chlorella</i> sp.	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Salinidade	Lipideos
		<i>Desmodesmus</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	Salinidade	Lipideos, Lipideos, proteína, carboidrato
Zhu et al.	2015	<i>C. zofingiensis</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N	Lipideos, proteína, carboidrato
		<i>N. salina</i>	Eustigmatophyceae	Ochrophyta	Unicelular	N, P	Lipideos, proteína, carboidrato
Chen et al.	2015	<i>D. salina</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Flagelado	N, P	Lipideos, proteína, carboidrato
		<i>Isochrysis galbana</i>	Coccolithophyceae	Haptophyta	Flagelado	N	Lipideos
Gim et al.	2016	<i>N. oculata</i>	Eustigmatophyceae	Ochrophyta	Unicelular	N	Lipideos
		<i>D. salina</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Flagelado	N	Lipideos
Sun et al.	2015	<i>C. protothecoides</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N, P, Luz	Lipideos, proteína, carboidrato
Sforza et al.	2014	<i>S. obliquus</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	Luz	Lipideos
Shalaby et al.	2010	<i>Spirulina platensis</i>	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Filamentosa	Salinidade	Lipideos
Moussa et al.	2017	<i>Tetraselmis marina</i>	Chlorodendrophyceae	Chlorophyta	Flagelado	N, P	Lipideos, proteína, carboidrato
Li et al.	2019	<i>Porphyridium purpureum</i>	Porphyridiophyceae	Rhodophyta	Unicelular	N	Lipideos, proteína, carboidrato
Kato et al.	2017	<i>Chlamydomonas</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Flagelado	Salinidade	Lipideos
Seo et al.	2017	<i>Ettlia</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Luz	Lipideos
Chakraborty et al.	2016	<i>C. minutissima</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N, P, Luz, Temperatura	Lipideos

Tabela 01 – Continuação.

Yang et al.	2015	<i>Monoraphidium dybowskii</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Salinidade	Lipideos, proteína, carboidrato
Fogliano et al.	2010	<i>Koliella antarctica</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Temperatura	Lipideos
Feng et al.	2020	<i>Chlorella</i> sp.	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N, P	Lipideos
Adamakis et al.	2018	<i>C. vulgaris</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N	Lipideos, proteína
Suthar e Verma	2018	<i>C. vulgaris</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N, P	Carboidrato
Lawton et al.	2015	<i>Oedogonium</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Filamentosa	Salinidade	Lipideos, proteína, carboidrato
Ou et al.	2005	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Tetrasporal	P	Proteína, carboidrato
El-Sheekh et al.	2019	<i>C. vulgaris</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N	Lipideos
Zhao et al.	2016	<i>Desmodesmus</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	Salinidade	Lipideos
		<i>Scenedesmus</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	Temperatura	Lipideos
Sonmez et al.	2016	<i>Micractinium</i> sp.	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	N, P, Temperatura	Lipideos
		<i>T. gracilis</i>	Chlorodendrophyceae	Chlorophyta	Flagelado	N	Lipideos
Selvakumar et al.	2014	<i>Platymonas convolutae</i>	Chlorodendrophyceae	Chlorophyta	Flagelado	N	Lipideos
Yang et al.	2016	<i>Chlorella</i> sp.	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Temperatura	Lipideos, proteína, carboidrato
Soru et al.	2019	<i>Coccomyxa melkonianii</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N	Lipideos
		<i>Monoraphidium contortum</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N, P, Temperatura	Lipideos
Bohnenberger et al.	2014	<i>M. aeruginosa</i>	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Tetrasporal	N, P, Temperatura	Lipideos
Metsoviti et al.	2019	<i>C. vulgaris</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N	Lipideos, proteína
Pugkaew et al.	2019	<i>T. suecia</i>	Chlorodendrophyceae	Chlorophyta	Flagelado	Salinidade	Lipideos, proteína, carboidrato

Tabela 01 – Continuação.

		<i>Chroococidiopsis</i> sp.	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Tetrasporal	Temperatura	Lipideos, proteína, carboidrato
Schipper et al.	2019	<i>Tetraselmis subcordiformis</i>	Chlorodendrophyceae	Chlorophyta	Flagelado	Temperatura	Lipideos, proteína, carboidrato
		<i>Leptolyngbya</i> sp.	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Filamentosa	Temperatura	Lipideos, proteína, carboidrato
		<i>Picochlorum maculatum</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Temperatura	Lipideos, proteína, carboidrato
Hamouda et al.	2017	<i>S. obliquus</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	P	Lipideos, proteína, carboidrato
Kiran et al.	2015	<i>Chlorococcum</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N	Lipideos, proteína, carboidrato
Maltsev et al.	2019	<i>Coccomyxa elongata</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N, P	Lipideos
		<i>Tetradesmus obliquus</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	P	Lipideos
Sonkar e Mallick	2018	<i>Tetradesmus lagerheimii</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	P	Lipideos
		<i>C. vulgaris</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	P	Lipideos
		<i>C. minutissima</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	P	Lipideos
		<i>Chlamydomonas</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Flagelado	P	Lipideos
Zhang et al.	2018	<i>Nitzschia plea</i>	Bacillariophyceae	Bacillariophyta	Unicelular	Luz, Temperatura	Lipideos, proteína, carboidrato
Li et al.	2016	<i>I. galbana</i>	Coccolithophyceae	Haptophyta	Flagelado	Temperatura	Lipideos
Maltsev et al.	2021	<i>Nephrochlamys yushanlensis</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Tetrasporal	N, P	Lipideos
Bresaola et al.	2019	<i>Ankistrodesmus braunii</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Cenóbio	N	Lipideos, proteína
Rearte et al.	2018	<i>Golenkinia</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Salinidade	Lipideos, proteína, carboidrato

Tabela 01 – Continuação.

Huang et al.	2017	<i>B. braunii</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Tetrasporal	Luz	Lipideos
Morales-sanchez et al.	2020	<i>Chlamydomonas malina</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Flagelado	Salinidade, Luz, N	Lipideos, proteína, carboidrato
Ghosh et al.	2019	<i>Podohedriella</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	<i>Cenóbio</i>	N, P	Lipideos, proteína, carboidrato
Nagappan et al.	2020	<i>Nostoc</i> sp.	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Filamentosa	Luz	Lipideos
Xiaoling et al.	2020	<i>Nannochloropsis</i> sp.	Eustigmatophyceae	Ochrophyta	Unicelular	Temperatura	Lipideos
Gacheva et al.	2013	<i>Gloeocapsa</i> sp.	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Tetrasporal	Temperatura	Lipideos, proteína, carboidrato
Cho et al.	2020	<i>Chlorella</i> sp.	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	N	Lipideos, carboidrato
Koh et al.	2019	<i>C. vulgaris</i>	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Temperatura	Lipideos
Setta et al.	2014	<i>Synechococcus subsalsus</i>	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Unicelular	N	Lipideos, proteína, carboidrato
Bilin et al.	2013	<i>Chlorella</i> sp.	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Luz	Lipideos, proteína, carboidrato
Su et al.	2021	<i>Chlorococcum</i> sp.	Chlorophyceae	Chlorophyta	Unicelular	Salinidade	Lipideos
Morales-sanchez et al.	2020	<i>Chlamydomonas malina</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	Flagelado	Temperatura	Lipideos, proteína, carboidrato
Harini et al.	2020	<i>Nitzschia</i> sp.	Bacillariophyceae	Bacillariophyta	Unicelular	N, P, salinidade	Lipideos
Akgul	2020	<i>D. communis</i>	Chlorophyceae	Chlorophyta	<i>Cenóbio</i>	N	Lipideos, proteína
Silva et al.	2015	<i>N. oculata</i>	Eustigmatophyceae	Ochrophyta	Unicelular	N	Lipideos