

AS MICROALGAS COMO UMA ALTERNATIVA PARA A PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS PARTE I: BIOETANOL

Maiara Priscilla de Souza^{1*}, Thiago Rodriguez Bjerk³, Pablo Diego Gressler⁴, Rosana de Cassia de. Souza Schneider^{2,3}, Valeriano Antonio Corbellini^{2,3}, Maria Silvana Aranda Moraes³

¹ Curso de Química Industrial, Universidade de Santa Cruz do Sul, 96815-900, Rio Grande do Sul, Brasil.

² Departamento de Química e Física, Universidade de Santa Cruz do Sul, 96815-900, Rio Grande do Sul, Brasil.

³ Programa de Pós-graduação em Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do Sul, 96815-900, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁴ Doutorado em Biotecnologia e Biociências, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900, Santa Catarina, Brasil.

*E-mail: maiarapsouza@yahoo.com.br

Recebido em 01/11/2012

Aceito em 31/12/2012

RESUMO

A demanda do setor energético é um dos fatores culminantes para incentivar pesquisas que possibilitem inovações no setor biotecnológico bem como para impulsionar a produção de biocombustíveis. A variabilidade de matérias-primas existentes propicia vantagens para a produção de energia, contudo, deve-se optar por aquelas que apresentem características plausíveis dependendo do tipo de produto que se quer obter. Nesse contexto, observa-se que as microalgas apresentam características adequadas para produzir diversos tipos de combustíveis, dependendo do tipo de tratamento a que são submetidas, da espécie que está sendo analisada, bem como da composição bioquímica da biomassa. A produção de bioetanol a partir de microalgas é uma alternativa bastante promissora e crescente no âmbito energético tendo em vista que a biomassa desses micro-organismos possui uma enorme biodiversidade, além de conter elevados teores de carboidratos, fator imprescindível para a bioconversão das mesmas em etanol. Devido a esses fatores, há uma constante busca por métodos mais viáveis de pré-tratamento da biomassa, hidrólise e fermentação, tendo como um dos aspectos principais a abordagem de metodologias eficazes no âmbito de qualidade e rendimento do bioetanol. Sendo assim, busca-se reforçar o interesse no desenvolvimento de biocombustíveis conciliando com a importância da utilização de microalgas, analisando se estes micro-organismos estão aptos a serem utilizados na produção de bioetanol.

Palavras-chave: Microalgas. Biomassa. Bioetanol.

1 Introdução

A constante ascensão na demanda de biocombustíveis juntamente com a preocupação em relação aos impactos ambientais crescentes são os principais motivos que fortalecem a busca por novas alternativas de energias renováveis, que visam suprir a necessidade de novas tecnologias e ao mesmo tempo conciliar com ideias ambientalmente corretas e com a capacidade de aproveitamento de resíduos [1].

Durante os últimos anos houve um confronto ainda maior no âmbito energético, fator derivado dos recursos finitos de combustíveis fósseis, os quais são considerados insustentáveis, uma vez que tendem a se esgotar, além de acumular gases nocivos no meio ambiente [2]. Sendo assim, pesquisas em torno desse assunto tornam-se mais comuns. No entanto, a seleção de tecnologias plausíveis deve ser bastante minuciosa, a fim de que se possam criar novos processos de produção de biocombustíveis, bem como otimizar aqueles já existentes.

Dentre os principais motivos de interesse no setor de biocombustíveis, podem ser destacados: a mitigação das mudanças climáticas [3]; a produção de energia renovável visando à substituição de combustíveis fósseis [4]; a redução de emissão dos gases do efeito estufa [5]; a ênfase ao apoio e desenvolvimento de pesquisas locais com o intuito de instigar produções em pequena escala [6]; a redução significativa de custos no setor de transportes [7], entre outros.

Segundo John et al. [7], além da escassez dos combustíveis fósseis, o aquecimento global e o aumento dos preços de combustíveis derivados do petróleo geram uma grande preocupação, mostrando que é essencial a procura de fontes renováveis, sustentáveis, eficientes e de baixo custo. Como alternativa para minimizar esses impactos, sugere-se a utilização da biomassa, a qual pode fornecer inúmeros ganhos ambientais.

Conforme Demirbas [2], os biocombustíveis são uma fonte de energia renovável produzida a partir da biomassa, os quais podem ser substituintes dos combustíveis derivados do petróleo. Os benefícios dos biocombustíveis em relação aos combustíveis convencionais já existentes incluem uma segurança

energética, redução de impactos ambientais, reaproveitamento de resíduos e beneficiamento no setor socioeconômico.

Inúmeros tipos de biomassa podem ser identificados como fontes alternativas para a produção de energias limpas. Essas biomassas podem ser derivadas de biorresíduos, como por exemplo, sobras de alimentos, resíduos municipais e agrícolas; podem também ser provenientes de culturas energéticas comestíveis e não comestíveis; de plantas aquáticas consideradas fontes de bio-óleo, entre outros [1].

A conversão da biomassa em biocombustíveis pode ser classificada como sendo termoquímica e bioquímica. O primeiro processo é caracterizado como pirólise, liquefação, gaseificação e hidrogenação. A pirólise e a liquefação produzem bio-óleo como produto principal, a gaseificação gera gases de síntese, enquanto que a hidrogenação auxilia na otimização das propriedades dos biocombustíveis, bem como da matéria-prima. Já os processos bioquímicos contam com a transesterificação e fermentação, os quais produzem, como produtos principais, biodiesel e bioetanol, respectivamente [8-11].

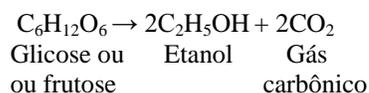
2 Bioetanol

Um dos biocombustíveis considerado como mais promissor futuramente é o bioetanol, o qual pode ser produzido a partir de biomassas com altos teores de amido/carboidrato. Segundo John et al [7], o Brasil, os Estados Unidos e o Canadá são os países que mais produzem bioetanol. Além de ser produzido a partir dos mais diversos tipos de matérias-primas, o bioetanol é menos tóxico se comparado a outros biocombustíveis, é facilmente biodegradável e seu uso emite menos poluentes em relação aos combustíveis derivados do petróleo. O bioetanol é comumente produzido pelo processo bioquímico da fermentação ou pelo método termoquímico, de gaseificação.

A fermentação é um dos métodos mais utilizados de se produzir esse biocombustível, o qual pode ser obtido a partir de inúmeras matérias-primas. Todavia, essas devem ter como requisito uma determinada quantidade de açúcares simples [2]. Primeiramente, a reação é feita com a hidrólise enzimática da sacarose, seguida pela transformação dos açúcares simples em glicose e frutose (Eq. 1).



Posteriormente realiza-se a fermentação, sendo o fermentador mais comum, a *Saccharomyces cerevisiae*. Nessa etapa, outras enzimas também presentes no fermentador convertem a glicose e a frutose em etanol e ocorre também a liberação de gás carbônico, conforme mostra a eq. 2.



Balat, Balat e Öz [12] consideram o bioetanol como sendo um biocombustível alternativo e atrativo, devido às suas propriedades biológicas e oxigenadas, fornecendo, assim, o potencial de reduzir emissões de partículas pelos motores. Além disso, este biocombustível apresenta índices elevados de octano, alto limite de inflamabilidade, maior velocidade de ignição e mais alto calor de vaporização do que a gasolina. Tendo em vista essas características, pode-se obter uma maior taxa de compressão, menor tempo de queima, e conseqüentemente leva mais vantagens sobre outros combustíveis.

Dentre as principais matérias-primas que impulsionam a produção de bioetanol, pode-se citar: as derivadas de açúcares (cana-de-açúcar, frutas, melaço [13-14]); do amido (milho, batata e tubérculos [15-16]) e da celulose (madeira, resíduos agrícolas e fábricas de papel [17-18]).

A produção de bioetanol com diferentes tipos de matéria-prima apresenta variações em seu processo de produção, principalmente nas etapas de pré-tratamento da biomassa, sacarificação, fermentação e recuperação do produto final. Sendo assim, o estudo individual de cada um desses parâmetros possibilita a realização de combinações mais adequadas para a produção do bioetanol [19].

Em relação à diversificação de matérias-primas existentes, pode-se destacar a lignocelulose, material que pode ser subdividido em três componentes principais: a celulose, a hemicelulose e a lignina. Destaca-se que a celulose e a hemicelulose representam aproximadamente 70% de toda a biomassa e apresentam ligações covalentes e pontes de hidrogênio com a lignina, ocasionando a estrutura altamente robusta e resistente, característica desses materiais [20].

Segundo Badger [21], o etanol produzido a partir da celulose apresenta grande potencial devido à ampla disponibilidade, abundância e custo relativamente baixo dos materiais celulósicos. Além desses fatores, destaca-se que a celulose é a que mais apresenta peso seco em relação as matérias-primas provenientes da lignocelulose, com um valor de 30 a 50%.

Chander et al [22] enfocam em seu trabalho a eficiência de se utilizar a hemicelulose, que é um dos polissacarídeos mais abundantes (15 a 30% de peso seco) para produzir o bioetanol. Essa característica mostra-se imprescindível no processo de bioconversão e faz com que a hemicelulose seja uma fonte promissora para a produção deste biocombustível.

Quanto à lignina, observa-se que há estudos que tentam minimizar a concentração desse composto, pois foi observada uma quantidade elevada da mesma na constituição das matérias-primas, ocasionando a redução da qualidade do etanol. Sendo assim, estão sendo desenvolvidas estratégias de retirada da lignina para posteriores reaproveitamentos no setor energético [20].

Embora a utilização da biomassa derivada de culturas terrestres seja ainda uma alternativa bastante requisitada, surgem

novas ponderações quanto à sua viabilidade, principalmente após a descoberta de outros métodos adequados, os quais se enquadram em designações subdivididas pelo etanol de primeira, segunda e terceira geração [10].

Conforme Goh e Lee [23], o bioetanol de primeira geração é aquele derivado de culturas alimentares e que apresenta aspectos negativos em se tratando de ética e moralidade, tendo em vista que a população ainda sofre com a fome e desnutrição. Devido a esse contexto, desenvolveu-se o bioetanol de segunda geração, o qual utiliza a biomassa lignocelulósica e que oferece vantagens compatíveis ao crescimento econômico, contudo, ainda é discutido uma vez que o cultivo de plantas terrestres requer recursos que poderiam ser utilizados para a produção de alimentos, além da difícil separação da lignina e da lignocelulose. Enfim, surge o bioetanol de terceira geração, o qual é proveniente de algas e microalgas e que constitui uma alternativa promissora para substituir os combustíveis fósseis.

Segundo Harun et al [10], existem inúmeras fontes para a produção de bioetanol, contudo, algumas não são plausíveis tendo em vista que competem com o mercado de alimentos, necessitam de grandes quantidades para serem utilizadas, além de que não foram registrados rendimentos tão significativos como o trigo, o milho, a mandioca e o sorgo sacarino [24]. Sendo assim, as microalgas surgem como uma alternativa viável para a produção do bioetanol uma vez que sua produção reflete aspectos positivos, variabilidade de processos de conversão e biodiversidade.

3 Microalgas

As microalgas são organismos autotróficos que se desenvolvem a partir do processo de fotossíntese, assim como plantas terrestres. Esses micro-organismos apresentam requisitos simples para seu desenvolvimento (luz, açúcares, CO₂, N, P, K), podem crescer em diversos habitats e em temperaturas extremas com diversas variações no pH, produzem lipídios e carboidratos em grande quantidade em um curto prazo de tempo [25-26].

O cultivo de microalgas é essencial para a obtenção de substâncias como os ácidos graxos, carboidratos, proteínas e pigmentos, como por exemplo, a clorofila. No momento em que ocorre a variação da composição e concentração dessas substâncias, obtêm-se diferentes propriedades, as quais são influenciadas pela natureza desses micro-organismos, pelas condições e estado fisiológico da cultura [27]. A Tabela 1 apresenta a composição de biomassas de diferentes tipos de algas.

A estrutura unicelular das microalgas permite que elas possam converter energia solar em energia química facilmente, porém, para se alcançar uma eficácia para a produção de energia renovável, deve-se levar em consideração a exploração de técnicas, assim como, procedimentos e processos de produção em grandes quantidades [8].

Se comparadas com outros tipos de culturas, as microalgas necessitam de técnicas mais específicas para o seu cultivo, extração e conversão para que apresentem viabilidade no processo de produção. Concomitantemente, o custo de purificação do produto final, bem como dos processos de preparo antecedentes, são altos se comparados com outros meios de cultura [8].

Segundo Demirbas [2], as microalgas podem apresentar desvantagens, todavia, a quantidade de vantagens observadas demonstram a adequação desses micro-organismos no setor energético. Dentre as principais vantagens de se utilizar microalgas como matéria-prima, ressalta-se: a elevada taxa de crescimento de algas, que auxilia e satisfaz a alta demanda de biocombustíveis sem desperdiçar recursos alimentícios; o bom desenvolvimento que apresentam na presença de CO₂, permitindo assim uma grande eficiência na mitigação do mesmo; o cultivo de microalgas necessita de menos água se comparado às culturas terrestres; auxiliam na redução da emissão de gases causadores do efeito estufa.

Além destas vantagens, Brennan e Owende [25] citam ainda que as microalgas são capazes de produzir o ano todo, podem ser cultivadas em águas salobras, apresentam um rápido crescimento que pode duplicar a sua biomassa em curtos períodos, têm alto teor lipídico, são eficazes no tratamento de efluentes e o seu cultivo não necessita da aplicação de herbicidas e pesticidas.

As microalgas podem atuar e contribuir em inúmeros setores, entretanto, o alto potencial no âmbito energético contribui para a obtenção de vários produtos, os quais, dependendo do tipo de tratamento que recebem, podem resultar em diferentes tipos de biocombustíveis. Como esses micro-organismos apresentam uma elevada quantidade de água em sua composição, nem todos os processos de conversão de energia são eficazes [32-33].

3.1 Produção de bioetanol a partir de microalgas

A produção de bioetanol a partir de microalgas vem recebendo uma atenção notável tendo em vista que esses micro-organismos apresentam uma alta taxa fotossintética e possuem imensa biodiversidade e variabilidade em sua composição bioquímica, provenientes de sua biomassa [34].

Conforme John et al. [7], a utilização da biomassa de microalgas como matéria-prima para a produção de bioetanol vêm se tornando bastante notável e, como exemplo de algumas microalgas que se adaptam aos parâmetros de produção deste biocombustível, estão a *Chlorella*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus* e *Spirulina*. Esses micro-organismos se destacam por apresentarem altas concentrações de amido e glicogênio em sua composição além de possuírem uma assimilação eficiente da celulose, que são fatores imprescindíveis para a produção de bioetanol.

Tabela 1- Composição da biomassa de diferentes tipos de algas e microalgas.

Algas e microalgas	Carboidratos (%)	Lipídeos (%)	Proteínas (%)	Ref.
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	13.1	45.2	5.2	[28]
<i>Aphanothece microscopica</i> Nägeli	0.176 ± 0.15	0.079 ± 0.08	0.493 ± 0.01	[29]
<i>Chlorella fusca</i>	19 ± 1	1.5 ± 0.3	52 ± 2.2	[27]
<i>Chlorella</i> sp.	9.46 ± 0.25	28.82 ± 0.72	43.22 ± 0.33	[30]
<i>Dunaliella salina</i>	16.0 ± 0.2	7.9 ± 0.3	29 ± 1	[27]
<i>Sargassum kushimonte</i>	42.89	0.12	6.37	[31]
<i>Sargassum cristaefolium</i>	46.78	0.17	5.09	[31]
<i>Spirulina</i> sp.	15 ± 1	5.9 ± 0.1	52 ± 2	[27]

A microalga *Scenedesmus obliquus* revela-se uma fonte bastante adequada para a produção de bioetanol, podendo atingir teores de até 95,6% de açúcares, conforme descrito por Miranda, Passarinho e Gouveia [35]. Essa alta taxa de açúcares mostra-se bastante viável na produção desse biocombustível, porém, ressalta-se que a parede celular da microalga *Scenedesmus obliquus* é uma das mais resistentes, e por isso, o estudo de métodos de ruptura da parede celular desses micro-organismos deve ser bastante eficaz.

O estudo e avaliação de parâmetros para a produção de uma planta de bioetanol a partir da microalga *Chlorella vulgaris* foi relatado por Powell e Hill [36], o qual estudou se esse micro-organismo seria vantajoso, desde sua produção em fotobiorreatores até o reaproveitamento residual lipídico para posterior produção de biodiesel. A análise promoveu a possibilidade de produção de bioetanol a partir da *Chlorella vulgaris* com o controle das condições de todas as etapas, todavia, foi sugerido o estudo de novas espécies para tentar acumular uma maior quantidade lipídica para melhores reaproveitamentos.

Segundo Kim, Um e Kim [37], a microalga *Schizocytium* sp. é também uma fonte de produção de bioetanol, sendo que neste estudo, houve uma produção de 11,8 g L⁻¹ de etanol, proveniente de 25,7 g L⁻¹ de glicose.

Assim como as microalgas, as algas e macroalgas também podem ser utilizadas para a produção do bioetanol, uma vez que possuem a capacidade de converter seu material de estoque em açúcares fermentáveis. A inexistência ou quase ausência de lignina na composição destas espécies faz com que o processo de hidrólise seja mais simples. As macroalgas ainda apresentam a vantagem de crescer rapidamente e de produzir grandes quantidades de biomassa [7].

A utilização da alga vermelha *Kappaphycus alvarezii* é um dos exemplos propícios para produzir o bioetanol e biofertilizante. Em estudos recentes, Khambhaty et al. [38] cita que esta macroalga possui condições favoráveis de crescimento diário (4-7%), todavia, buscam-se alternativas mais propícias para o cultivo dessa alga, uma vez que esta pode trazer impactos ambientais negativos provenientes de sua composição.

A irradiação gama vem sendo discutida como uma alternativa propícia para auxiliar na produção de bioetanol, uma vez que apresenta propriedades de despolimerizar complexos de polissacarídeos. Yoon et al. [39] relata em seu trabalho a utilização desse meio no processo de sacarificação da biomassa da alga marrom *Undaria* sp., demonstrando como resultados rendimentos satisfatórios na etapa de sacarificação, com e sem a etapa antecedente de hidrólise.

Borines, Leon e McHenry [31] discutem em seu trabalho a vantagem do cultivo de algas marrom da espécie *Sargassum*

spp. para a produção de bioetanol, uma vez que esta encontra-se em grande quantidade nas Filipinas, local onde o trabalho foi realizado. Essa alga revela-se com um teor representativo de carboidratos (*Sargassum kushimonte*, 42,89% e *Sargassum cristaefolium*, 46,78%), fator essencial para a produção de bioetanol.

Segundo Choi, Nguyen e Sim [40], a alga *Chlamydomonas reinhardtii* é propícia para produção de etanol, uma vez que resultou em aproximadamente 235 mg de carboidratos por grama de biomassa. Esse estudo enfatiza ainda a importância do controle dos parâmetros da etapa de liquefação e sacarificação. Com este mesmo propósito, também são encontrados estudos com a alga *Spirogyra*, alga verde que cresce em abundância, sendo viável para a produção de bioetanol e podendo atingir rendimentos de até 20% g etanol/g alga [41-42].

4 Etapas de produção de bioetanol a partir de microalgas

Segundo Harun et al. [43], existem diversas metodologias para produzir o bioetanol a partir de microalgas, todavia, o processo mais comum se dá pelas seguintes etapas: pré-tratamento, para romper a parede celular da biomassa microalgácea; hidrólise da celulose (e potencialmente da hemicelulose) com o intuito de formar açúcares simples; fermentação da celulose e hemicelulose para posterior produção do bioetanol.

4.1 Pré-tratamento

Harun e Danquah [19] citam que o pré-tratamento da biomassa é um processo crucial uma vez que é essencial para que os açúcares fermentáveis estejam adequados para o processo de fermentação. O pré-tratamento mais atrativo para a biomassa é aquele que é energeticamente viável, eficaz, de simples aplicação e que não degrade os açúcares fermentáveis. Esse processo pode ser de três tipos: físico, biológico e químico.

O processo físico conta normalmente com processos de fragmentação mecânica e pirólise, o que faz com que haja uma maior superfície de contato, reduz o grau de polimerização e aumenta o rendimento da hidrólise; o pré-tratamento biológico utiliza micróbios e enzimas com o intuito de degradar a biomassa para posterior liberação de açúcares fermentescíveis e é considerado o mais ambientalmente correto; já o pré-tratamento químico conta com a inserção de reagentes químicos, sendo comumente utilizados o ácido sulfúrico e o hidróxido de sódio que aumentam a biodegradabilidade da celulose através da lignina e/ou hemicelulose [44].

Harun et al. [43] revelam que os processos químicos são predominantes no pré-tratamento uma vez que apresentam sistemas de baixo custo e eficiência de hidrolisar a celulose e hemicelulose em açúcares. Nesse contexto, os métodos alcalinos

e ácidos são bastante utilizados para o tratamento da biomassa de microalgas.

O pré-tratamento alcalino conta com a imersão da biomassa em uma solução básica (como por exemplo, hidróxido de sódio) e aquecimento em um determinado período. Durante essa etapa ocorrem as reações de solvatação e saponificação, bem como a remoção de ligações cruzadas entre a hemicelulose e outros componentes. Essa etapa é mais vantajosa para materiais que apresentam pouca lignina e pelo fato das microalgas apresentarem esta característica, são propícias a receber este tipo de tratamento [43].

O pré-tratamento básico da biomassa derivada de microalgas pode ser constatado em Harun et al. [45], o qual especifica que a utilização de NaOH é uma opção promissora, uma vez que impulsiona desde o processo de obtenção dos açúcares até os processos consecutivos que visam originar o bioetanol.

Já o pré-tratamento ácido (comumente ácido sulfúrico, clorídrico ou acético) da biomassa de microalgas demonstra-se também eficaz uma vez que ocorre a liberação de mais de 50% de glicose e, conseqüentemente, um maior rendimento na produção de bioetanol pode ser obtido com a inserção de algum desses ácidos [8].

A influência do pré-tratamento físico e químico da biomassa da microalga *Scenedesmus obliquus* com o intuito de extrair açúcares para posterior produção de bioetanol foi descrito por Miranda, Passarinho e Gouveia [35]. Nesse estudo, foram realizados testes físicos com ultrassom, autoclave, “bead-beating” (processo de rompimento físico da célula) e homogeneização, enquanto os químicos com o pré-tratamento com H₂SO₄, HCl e NaOH. Foi observado que o método químico de pré-tratamento com ácido sulfúrico foi o mais satisfatório para a liberação dos açúcares e carboidratos presentes na biomassa dessa microalga.

Nguyen et al. [46] relatam também que o pré-tratamento com ácido sulfúrico da biomassa de *Chlamydomonas reinhardtii* mostrou-se bastante plausível, uma vez que foi possível obter um rendimento de 58% de glicose em um intervalo de 30 minutos com a temperatura a 110 °C.

Kim, Um e Kim [37] relatam em seu trabalho a viabilidade de produção de bioetanol a partir da microalga *Schizocytium* sp. utilizando o pré-tratamento hidrotermal, uma vez que este possibilitou um bom fracionamento da microalga e conseqüentemente auxiliou na produção de uma maior quantidade de açúcares, lipídios e proteínas.

4.2 Hidrólise

Uma das etapas também considerada fundamental para o processo de bioetanol é a hidrólise, a qual está inter-relacionada com a etapa do pré-tratamento, uma vez que esse processo ajuda no rompimento da parede celular e, conseqüentemente, aumenta

de forma significativa os açúcares produzidos na etapa da hidrólise [47].

A hidrólise enzimática juntamente com a hidrólise ácida é um dos métodos mais comuns de sacarificação. Sendo assim, utilizam-se as enzimas celulósicas para reduzir a celulose em açúcares simples, incluindo a glicose. A combinação da hidrólise ácida torna esse processo economicamente viável. Todavia, ressalta-se que as enzimas celulósicas são específicas na conversão da celulose e não auxiliam no tratamento da hemicelulose contida na biomassa. Devido a esses fatores, observa-se a pertinência de se realizar as etapas de pré-tratamento com o intuito de aumentar o rendimento do processo [43].

Conforme Suali e Sarbatly [8], a hidrólise com ácido diluído antes da etapa de hidólise enzimática é uma alternativa que intensifica o rendimento da glicose presente na biomassa das microalgas. Nesse trabalho também foi demonstrada a capacidade de hidrolisar a biomassa desses organismos com a catálise enzimática, tendo em vista que esse processo resulta em uma maior degradação de compostos fermentescíveis se comparado com a catálise ácida e básica.

Goh e Lee [23] citam em seu trabalho que a etapa da hidrólise da biomassa microalgácea é plausível para conversão de polissacarídeos em açúcares fermentescíveis. Os tipos de hidrólise presentes neste trabalho são: a enzimática ou a levemente acidificada. A primeira, de acordo com esses autores, deve ser mais estudada tendo em vista a dificuldade de hidrolisar a carragena, composto hidrocoloide proveniente de algas marinhas. Já a segunda opção consiste na adição de ácido sulfúrico em 80 °C e posterior aquecimento até atingir 100 °C durante 3 horas, sendo a neutralização feita com carbonato de bário.

Segundo Miranda, Passarinho e Gouveia [35], o estudo de metodologias de desruptura e extração de açúcares da microalga *Scenedesmus obliquus* levou a escolha da hidrólise ácida, com ácido sulfúrico, uma vez que apresentou rendimentos satisfatórios para produção de bioetanol. Já Harun e Danquah [48] optaram pela hidrólise enzimática da microalga *Chlorococcum* sp. tendo em vista que esse processo mostrou-se efetivo para aumentar a sacarificação e conseqüentemente o rendimento de glicose para posterior produção de bioetanol.

4.3 Fermentação

Outra etapa imprescindível e bastante discutida é a fermentação, a qual vem sendo apontada como um dos fatores decisivos para a boa qualidade do bioetanol. Segundo Mushlihah et al., [41], a fermentação pode ser definida como sendo a

decomposição da matéria orgânica em compostos simples, os quais são produzidos a partir do auxílio de micro-organismos que produzem energia posteriormente. Já Brennan e Owende [25] especificam que a fermentação consiste na conversão de compostos contidos na biomassa (açúcares, amido ou celulose) em etanol a partir da inserção de fermentadores.

A etapa de fermentação na produção de bioetanol a partir da biomassa de microalgas é avaliada como sendo vantajosa, tendo em vista que este processo envolve menor consumo de energia se comparado ao biodiesel. O CO₂ produzido como subproduto da fermentação pode ser reciclado como fonte de carbono para o cultivo de microalgas e conseqüentemente reduz os gases causadores do efeito estufa [1].

Conforme Maria et al., [49], a seleção de micro-organismos no processo de fermentação deve apresentar características definidas e específicas como: capacidade de fermentar carboidratos com alto desempenho, elevada velocidade de fermentação, osmotolerância, tolerância ao etanol e a compostos ácidos, viabilidade celular elevada, resistência a altas temperaturas e estabilidade genética.

Diversos tipos de micro-organismos estão aptos a serem utilizados no processo de fermentação durante a conversão de microalgas em bioetanol, no entanto, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é uma das mais utilizadas para esse fim [23]. A Tabela 2 apresenta os tipos de pré-tratamento e fermentação mais comuns para a produção de bioetanol a partir de microalgas.

Segundo Balat, Balat e Öz [12], as principais vantagens provenientes da *Saccharomyces cerevisiae* são a alta produção de bioetanol a partir de hexoses, a alta tolerância desta levedura em presença de álcoois, em compostos como ácidos da hidrólise da biomassa e outros compostos inibitórios.

Harun e Danquah [19] demonstram em seu trabalho a viabilidade de fermentação da microalga *Chlorococcum humicola* com a levedura *Sacharomyces cerevisiae*, uma vez que foi possível, no final do processo, a obtenção do bioetanol. Adams, Gallagher e Donnison [50] revelam também que a alga marrom *Saccharina latissima* fermentada com *Sacharomyces cerevisiae* ocasiona resultados propícios para a produção desse biocombustível.

Além desses exemplos, outros tipos de algas e microalgas podem ser fermentadas com *Sacharomyces cerevisiae*, sendo o caso da *Chlamydomonas reinhardtii* [40,44], *Chlorococcum* sp. [26,51] e *Kappaphycus* [38].

Tabela 2- Tipos de pré-tratamento e fermentação mais comuns para a produção de bioetanol a partir de algas e microalgas

Algas e microalgas	Tipo de pré-tratamento	Fermentador	Bioetanol, % (g etanol/g alga)	Referência
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	ácido	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	29,2	[46]
	enzimático	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,235	[40]
<i>Chlorococcum</i> sp.	alcalino	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26,1	[45]
	ácido	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10-35	[51]
<i>Chlorococcum humicola</i>	ácido	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	52	[19]
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	ácido	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,46	[38]
<i>Nannochloropsis</i> sp.	térmico (100-108 °C)	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	9,3	[52]
<i>Nizimuddinina zanardini</i>	ácido	-	-	[53]
<i>Saccharina latissima</i>	ácido/alcalino	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,45	[50]
<i>Scenedesmus almeriensis</i>	enzimático	-	-	[54]
<i>Scenedesmus obliquus</i>	ácido	-	-	[35]
	ultrassom (20Hz)	-	-	[55]
<i>Scenedesmus</i> sp.	térmico (70-80 °C)	-	-	[55]
	hidrotermal	<i>Escherichia coli</i> KO11	18,8g/L	[37]
<i>Spirogyra</i>	alcalino	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20	[42]
	enzimático	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4,42	[41]
	enzimático	<i>Zymomonas mobilis</i>	9,7	[41]

Outra levedura utilizada na fermentação de microalgas é a *Candida rugopelliculosa*, citada por Ryu B, et al. [56]. Nesse trabalho foram testadas metodologias de superfície de resposta (MSR) com o intuito de obter pequenas cadeias peptídicas e observa-se que a levedura *Candida rugopelliculosa* é viável para a etapa de fermentação da microalga *Pavlova lutheri*, contudo, deve-se ter um controle rigoroso de pH, temperatura e agitação.

Além da utilização de leveduras, outros micro-organismos podem ser utilizados para o processo de fermentação. Entretanto, ainda não foram realizados muitos testes para aplicar no setor de produção de bioetanol com microalgas. Como

exemplos, podem-se citar: as bactérias e fungos filamentosos [22].

Mushlihah et al. [41] compara em seu trabalho a viabilidade de se produzir bioetanol a partir da alga *Spirogyra* utilizando na fermentação, a bactéria *Zymomonas mobilis* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para posterior análise de qual fermentador produzia maior teor de bioetanol. Como resultado, constatou-se que a bactéria *Zymomonas mobilis* foi a que apresentou maior percentual neste âmbito, com 9,7% se comparada com a levedura, que produziu 4,42% desse biocombustível.

Ike et al. [57] mostraram que a fermentação das microalgas *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorellapyrenoidosae* e *Dunaliella tertiolecta* é efetiva para a produção de ácido láctico com a bactéria *Lactobacillus amylovorus*; Talukder, Das e Wu [58] demonstraram, para esse mesmo propósito, a viabilidade da bactéria *Lactobacillus pentosus* na fermentação da microalga *Nannochloropsis salina*. A utilização da bactéria *Escherichia coli* KO11 como meio de fermentação é também revelada como sendo propícia para esse fim [37].

Apesar de poucos estudos em relação produção de bioetanol de microalgas com fungos, esses são uma alternativa bastante discutida para a produção desse biocombustível. Zhang e Hu [59] mostraram a possibilidade de co-peletizar células de microalgas em *pellets* de fungos, com o auxílio do *Aspegillus niger* para posterior colheita dessas microalgas, sendo esse processo uma forma de diminuir custos significativos para produção de biocombustíveis, além de minimizar desperdícios da biomassa.

5 Considerações finais

A variabilidade de processos existentes para a produção de bioetanol a partir de microalgas possibilita a inserção de práticas eficazes, contudo, revela-se neste estudo que para uma metodologia ser consistente, vários parâmetros devem ser analisados, desde a escolha da microalga que será utilizada como matéria-prima até o processo de purificação deste biocombustível. Essas etapas, além de visar a um bom rendimento, devem ser minuciosamente analisadas para evitar o uso de reagentes desnecessários, minimizar resíduos e, conseqüentemente, criar um processo ambientalmente correto. Sendo assim, estudos minuciosos devem ser realizados visando além de produzir o bioetanol de forma satisfatória, criar processos viáveis e que possam ser postos em prática de maneira eficaz quando realizados em escalas maiores.

Agradecimentos

Programa de Fixação de doutores Fapergs, CNPq, Fap-UNISC

MICROALGAE AS AN ALTERNATIVE TO BIOFUELS PRODUCTION. PART 1: BIOETHANOL

ABSTRACT: The demand from the energy sector is one of the culminating factors to do researches that enable innovations in the biotechnology sector and to boost biofuel production. The variability of the existing feedstocks provides benefits to energy production, however, we must choose the ones that present plausible characteristics depending on the type of product that we want to obtain. In this context, it is noted that the microalgae have suitable characteristics to producing different types of fuels, depending on the type of treatment are

subjected, the species being analyzed as well as the biochemical composition of the biomass. Bioethanol production from microalgae is a promising and growing energy alternative under a view that biomass of these microorganisms has an enormous biodiversity and contain high levels of carbohydrates, an indispensable factor for the bioconversion of microalgae in ethanol. Due to these factors, there is a constant search for more viable methods for pretreatment of biomass, hydrolysis and fermentation, having as one of the major aspects the approach of effective methodologies in the ambit of quality and yield of ethanol. Therefore, we have to search to increase the interest in the developing of biofuels reconciling with the importance of using microalgae, analyzing whether these micro-organisms are capable of being used in bioethanol production.

Keywords: Microalgae. Biomass. Bioethanol.

Referências

- [1] Singh, J.; Gu, S.; Renew. Sust. Energy. Rev., Vol. 14, p.2596-2610, 2010.
- [2] Demirbas, A.; Energ. Convers. Manage., Vol. 51, p. 2738-2749, 2010.
- [3] Schaffnit-chatterjee A.C.; Mitigating climate change through agriculture. Deutsche Bank Research, 2011.
- [4] Walker, D.A.; J. Appl. Phycol., Vol. 21, p. 509-517, 2009.
- [5] Demirbas, M.F.; Appl. Energ., Vol. 88, p. 3473-3480, 2011.
- [6] Russo D., et al.; Renew. Sust. Energ. Rev., Vol. 16, p.4056-4070, 2012.
- [7] John, R.P.; Anisha, G.S.; Nampoothiri, K.M.; Pandey, A.; Bioresource technol., Vol. 102, p. 186-193, 2011.
- [8] Suali, E.; Sarbatly, R.; Renew. Sust. Energ. Rev., Vol. 16, p.4316-4342, 2012.
- [9] Tran, N.H., et al; Fuel., Vol. 89, p. 265-274, 2010.
- [10] Dragone, G.; Fernandes, B.; Vicente, A.A.; Teixeira, J.A.; Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. p.1355-1366, 2010.
- [11] Harun, R.; Singh, M.; Forde, G.M.; Danquah, M.K.; Renew. Sust. Energ. Rev., Vol. 14, p. 1037-1047, 2010.
- [12] Balat, M.; Balat, H.; Öz, C.; Prog. Energ. Combust., Vol. 34, p.551-573, 2008.
- [13] Dias, M.O.S., et al.; Chem. Eng. Res. Des., Vol. 87, p.1206-1216, 2009.
- [14] Almodares, A.; Hadi, M.R.; Afr. J. Agric. Res., Vol 4, p.772-780, 2009.
- [15] Aden, A.; Technical Report , NREL/TP-510-43205, 2008.
- [16] Lee, W., et al; Renew. Energ., Vol. 39, p.216-222, 2012.
- [17] Pimentel, D.; Patzek, T.W.; Nat. Res. Res., Vol. 14, p.65-76. 2005.
- [18] Li, Y.; Park, J.Y.; Shiroma, R.; Tokuyasu, K.; J. Biosci. Bioeng., Vol. 111, p.682-686, 2011.
- [19] Harun, R.; Danquah, M.K.; Process Biochem., Vol. 46, p.304-309, 2011.
- [20] Limayem, A.; Ricke, S.C.; Prog. Energ. Combust., Vol. 38, p.449-467, 2012.

- [21] Badger, P.C.; Ethanol From Cellulose: A General Review, p.17-21. In: Janick, J.; Whipkey, A.; Trends in New Crops and New Uses; ASHS Press; Alexandria, 2002. 599p.
- [22] Chander, R.; et al. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, Vol. 15, p.4950-49, 2011.
- [23] Goh, C.S.; Lee, K.T.; *Renew. Sust. Energ. Rev.*, Vol. 14, p.842-848, 2010.
- [24] Jardine, J.G.; Dispatto, I.; Peres, M.R.; Indicações de aspectos tecnológicos sobre o bioetanol de matéria-prima amilácea; Embrapa Informática Agropecuária; Campinas, 2009. p.1-27.
- [25] Brennan, L.; Owende, P.; *Renew. Sust. Energ. Rev.*, Vol. 14, p.557-577, 2009.
- [26] Pate, R.; Klise, G.; Wu, B.; *Appl. Energ.*, Vol. 88, p.3377-3388, 2011.
- [27] Díaz-Palma, P.; et al.; *J. Biosci. Bioeng.*, Vol. 113, p. 730-736, 2012.
- [28] Kalita, N.; et al.; *J. Microbiol. Biotechn.*, Vol. 1, p.148-157, 2011.
- [29] Zepka, L.Q.; Jacob-Lopes, E.; Goldbeck, R.; Queiroz, M.I.; *Chem. Eng. Process.*, Vol. 47, p. 1305-1310, 2008.
- [30] Phukan, M.M.; Chutia, R.S.; Konwar, B.K.; Katak, R.; *Appl. Energ.*, Vol. 88, p.3307-3312, 2011.
- [31] Borines, M.G.; Leon, R.L.; McHenry, M.P.; *Renew. Sust. Energ. Rev.*, Vol. 15, p.4432-4435, 2011.
- [32] Lam, M.K.; Lee, K.T.; *Chem. Eng. J.*, Vol. 191, p.263-268, 2012.
- [33] Ehimen, E.A.; Sun, Z.F.; Carrington, C.G.; *Fuel.*, Vol. 89, p.677-684, 2010.
- [34] Bianchini, R.; Silvana, D.; Maurício, O.; *Ciênc. Rural*, Vol. 36, p.1959-1967, 2006.
- [35] Miranda, J.R.; Passarinho, P.C; Gouveia, L.; *Bioresource Technol.*, Vol. 104, p. 342-348, 2012.
- [36] Powell, E.E.; Hill, G.A.; *Chem. Eng. Res. Des.*, Vol. 87, p.1340-1348, 2009.
- [37] Kim, J.K.; Um, B.H.; Kim, T.H.; *Korean J. Chem. Eng.*, Vol. 29, p.209-214, 2012.
- [38] Khambhaty, Y.; et al.; *Bioresource Technol.*, Vol. 103, p.180-185, 2012.
- [39] Yoon, M.; Choi, J.; Lee, J.W.; Park, D.H.; *Radiat. Phys. Chem.*, Vol. 81, p. 999-1002, 2012.
- [40] Choi, S.P.; Nguyen, M.T.; Sim, S.J.; *Bioresource Technol.*, Vol. 101, p.5330-5336, 2010.
- [41] Mushlihah, S.; et al.; *J. Basic Appl. Sci. Res.*, Vol. 1, p.589-593, 2011.
- [42] Eshaq, F.S.; Ali, M.N.; Mohd, M.K.; *Int. J. Eng. Sci. Technol.*, Vol. 2, p.7045-7054, 2010.
- [43] Harun, R.; Jason, W.S.Y.; Cherrington, T.; Danquah, M.K.; *Renew. Sust. Energ. Rev.*, Vol. 85, p.199-203, 2010.
- [44] Zheng, Y.; Pan, Z.; Zhang, R.; *Int. J. Agric. Biol. Eng.*, Vol. 2, p.51-68, 2009.
- [45] Harun, R.; Jason, W.S.Y.; *Appl. Energ.*, Vol. 88, p.3464-3467, 2010.
- [46] Nguyen, M.T.; et al.; *J. Microbiol. Biotechn.*, Vol. 19, p.161-166, 2009.
- [47] Sun, Y.; Cheng, J.; *Bioresource Technol.*, Vol. 83, p.1-11, 2002.
- [48] Harun, R.; Danquah, M.K.; *Chem. Eng. J.*, Vol. 168, p.1079-1084, 2011.
- [49] Maria, E.; et al.; *Braz. Arch. Biol. Techn.*, Vol. 52, p.819-824, 2009.
- [50] Adams, J.M.; Gallagher, J.A.; Donnison, I.S.; *J. Appl. Phycol.*, Vol. 21, p.569-574, 2009.
- [51] Shaukat, S.S.; *Progress in Biomass and Bioenergy Production*; InTech; 2011. 444p.
- [52] Efremenko, E.M.; et al.; *Bioresource Technol.*, Vol. 114, p.342-348, 2012.
- [53] Yazdani, P.; Karimi, K.; Taherzadeh, M.J.; Improvement of enzymatic hydrolysis of a marine macro-alga by dilute acid hydrolysis pretreatment. In: *World Renewable Energy Congress*, 2011, p.186-191.
- [54] Garcia, J.M.R.; Fernandez, F.G.A.; Sevilla, J.M.F.; *Bioresource Technol.*, Vol. 112, p.164-170, 2012.
- [55] González-Fernández, C.; Sialve, B.; Bernet, N.; Steyer, J.P.; *Bioresource Technol.*, Vol. 110, p.610-616, 2012.
- [56] Ryu, B.; et al.; *Bioresource Technol.*, Vol. 107, p.307-313, 2012.
- [57] Ike, A.; Toda, N.; Hirata, K.; *J. Ferment. Bioeng.*, Vol. 84, p.428-433, 1997.
- [58] Talukder, M.R.; Das, P.; Wu, J.C.; *Biochem. Eng. J.*, Vol. 68, p.109-113, 2012.
- [59] Zhang, J.; Hu, B.; *Bioresource Technol.*, Vol. 114, p.529-535, 2012.