

A BIODIVERSIDADE DE MICROALGAS COMO AGENTE DA INOVAÇÃO SUSTENTÁVEL: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIORREMEDIÇÃO E BIORREFINARIA INTEGRAL.

DIEGO SERRASOL DO AMARAL¹; LEONARDO WERNER²; DAISA HABART BONEMANN²; GABRIELLY QUARTIERI SEJANES²; IGOR FRANZ SANTA BÁRBARA²; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA

¹UFPEL – diegos.amaral@outlook.com

²UFPEL – lahbbioufpel@gmail.com

³UFPEL – claudiochemistry@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A biodiversidade de microalgas é um recurso promissor e ainda subexplorado para a inovação sustentável, oferecendo uma ampla gama de aplicações com potencial para transformar diversos setores industriais (BHALAMURUGAN et al., 2018; UMMALYMA et al., 2023). Estes organismos, adaptados a diferentes ecossistemas, destacam-se pelo elevado potencial produtivo e pela versatilidade bioquímica, tornando-se uma matéria-prima valiosa para o desenvolvimento de novos bioproductos sustentáveis. Suas características permitem a utilização das microalgas em processos de biorremediação, tornando o cultivo desses organismos uma estratégia para mitigar impactos ambientais. Dessa forma, as microalgas mostram-se especialmente atrativas para processos que buscam soluções ecológicas e eficientes, com impacto positivo tanto na economia quanto no meio ambiente (BOROWITZKA et al., 2018; YAN et al., 2022; DO et al., 2022).

A biorrefinaria de microalgas é uma abordagem inovadora para a utilização integral da biomassa microalgal, permitindo a produção de diversos bioproductos a partir de uma única fonte biológica (WANG et al., 2022). Esta estratégia, alinhada aos princípios da economia circular, maximiza o aproveitamento dos recursos naturais e minimiza o desperdício, convertendo efluentes em insumos para novos processos e produtos originados das microalgas (CHEIRSILP et al., 2022). A bioprospecção de espécies nativas, como as encontradas na região do Capão do Leão, reforça a sustentabilidade da abordagem ao utilizar recursos locais adaptados às condições ambientais específicas, promovendo um modelo de produção que une eficiência e valorização da biodiversidade. A extração sequencial de diferentes frações da biomassa microalgal é denominada biorrefinaria integral de microalgas, processo que viabiliza a aplicação em múltiplos setores industriais da mesma biomassa sem gerar resíduos (CHEIRSILP; MANEECHOTE, 2022).

Este estudo visa isolar, identificar e caracterizar previamente espécies de microalgas coletadas no campus Capão do Leão, da Universidade Federal de Pelotas, avaliando seu potencial de crescimento em diferentes meios e efluentes, além de investigar a composição da biomassa gerada, utilizando um novo protocolo sequencial. Deste modo, este trabalho contribui para o avanço do conhecimento sobre o uso de microalgas na inovação ecológica e na busca por soluções produtivas e ambientalmente responsáveis.

2. METODOLOGIA

2.1 COLETA DE AMOSTRAS, IDENTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE MICROALGAS

Amostras de água doce foram coletadas em tubos de polietileno (50 mL) de diferentes pontos do Campus Universitário Capão do Leão, na Universidade

Federal de Pelotas, e mantidas a temperatura fixa (21°C). A identificação taxonômica das microalgas será realizada por microscopia óptica com base em características morfológicas e referências bibliográficas (BICUDO; MENEZES, 2006; GARDUÑO-SOLÓRZANO *et al.*, 2021). O isolamento será realizado por meio da inoculação de uma fração das amostras em meios de cultura enriquecidos (BBM e BG11) (ANDERSEN; KAWACHI, 2005). Após o crescimento, serão realizadas diluições seriadas em placas de 24 poços e a separação das microalgas por micropipetagem (ANDERSEN; KAWACHI, 2005).

2.2 TESTE DE CRESCIMENTO EM MEIO DE CULTURA E EFLUENTE

As culturas unialgais foram avaliadas quanto ao crescimento em efluente doméstico (ANDERSEN; KAWACHI, 2005), com as taxas de crescimento determinadas em condições controladas de temperatura (21± 2 °C) e luminosidade (70 µmol fôtons m⁻²·s⁻¹). O crescimento foi monitorado por densidade óptica a 650 nm em espectrofotômetro e peso seco (cada taxa de crescimento foi calculada separadamente), com medições iniciais após o inóculo e ao fim de 72 horas (ANDERSEN; KAWACHI, 2005). Todas as amostras ficaram em mesa agitadora a 160 rpm sob incidência integral de luz branca fluorescente.

2.3 EXPERIMENTO DE BIORREMEDIACÃO

O ensaio visa identificar as condições ideais para a remoção de poluentes do esgoto, que será avaliada indiretamente pela taxa de crescimento (μ), com foco nas concentrações de inóculo inicial (10%, 20% e 30%). O experimento foi realizado em triplicata, utilizando frascos de 5 L contendo 4,5 L de cultivo, mantidos sob aeração constante a 21± 2 °C, com irradiância controlada de 100 µmol m⁻²·s⁻¹. A eficiência da biorremediação foi avaliada com base nas taxas de crescimento e na redução de parâmetros como condutividade elétrica, salinidade e sólidos totais dissolvidos. As amostragens de 60 mL foram realizadas no início, após 72 horas, e a cada 24 horas até o final do experimento (15 dias).

2.4 EXTRAÇÃO SEQUENCIAL DE BIOMOLÉCULAS

Com base em uma revisão da literatura, foi desenvolvido um protocolo sequencial para a extração de polissacarídeos, proteínas e lipídios da biomassa de microalgas cultivadas em efluentes. Os polissacarídeos foram extraídos por refluxo com água destilada a 100°C por 4 horas, seguidos de precipitação com etanol a -4°C por 24 horas. As proteínas foram extraídas com tampão Tris-HCl e quantificadas pelo método Kjeldahl (LYNCH *et al.*, 1999). Para a extração de lipídios, utilizou-se a metodologia de BLIGH & DYER (1959). As biomoléculas foram caracterizadas por GC-MS para lipídios, método Kjeldahl para proteínas e FTIR para carboidratos, conforme metodologias descritas por FRASSINI *et al.* (2019) e PASSOS *et al.* (2021).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificadas 10 espécies: *Chlamydomonas* sp., *Chlorella minutissima*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, *Monoraphidium contortum*, *Pectinodesmus pectinatus*, *Ankistrodesmus arcuatus*, *Phormidium* sp., *Nostoc commune* e *Synechococcus* sp., espécies já descritas em outros estudos brasileiros, como ROCHA *et al.* (2017) e TUCCI *et al.* (2012). Contudo, há uma lacuna de estudos que enfoquem a região sul do Rio Grande do Sul.

Quatro microalgas foram utilizadas no teste de crescimento em efluente: *Scenedesmus obliquus* ($\mu_{abs/tempo} = 0,62\text{ d}^{-1}$), *Monoraphidium contortum* ($\mu_{abs} = 0,56\text{ d}^{-1}$), *Pectinodesmus pectinatus* ($\mu_{abs/tempo} = 0,48\text{ d}^{-1}$) e *Chlamydomonas* sp. ($\mu_{abs/tempo} = 0,35\text{ d}^{-1}$). A partir desse teste a microalga *Scenedesmus obliquus* foi selecionada para o experimento de biorremediação. Durante esse experimento o

inóculo de 20% apresentou a maior taxa de crescimento e produtividade de biomassa ($\mu_{\text{peso/tempo}} = 0,1 \text{ d}^{-1}$, produtividade $0,8 \text{ g.L}^{-1}$), seguido pelo inóculo de 10% ($\mu_{\text{peso/tempo}} = 0,095 \text{ d}^{-1}$, produtividade $0,66 \text{ g.L}^{-1}$) e 30% ($\mu_{\text{peso/tempo}} = 0,090 \text{ d}^{-1}$, produtividade $0,77 \text{ g.L}^{-1}$). As análises de remoção de nutrientes e metais estão em andamento. Comparando esses dados com o estudo de CHEG et al. (2021), que observou que *S. obliquus* apresenta maiores taxas de crescimento ($0,133 \text{ d}^{-1}$) e produtividade ($0,769 \text{ g.L}^{-1}$) sob concentrações específicas de nutrientes em condições autotróficas, percebe-se que, embora o outro estudo tenha encontrado condições avaliado as condições ideais em meio sintético, às produtividade dos experimentos é similar, indicando o potencial da utilização de efluentes na produção de microalgas.

A extração sequencial de biomoléculas da biomassa de *Scenedesmus obliquus* cultivada em efluente revelou teores de carboidratos (14%), proteínas (40,54%) e lipídios (21,4%). A análise por GC-MS identificou os principais compostos lipídicos como Ácido Oleico (36,1%), Ácido Linoleico (33,3%), Ácido Palmítico (19,12%) e Ácido Esteárico (6,8%), destacando o potencial do extrato lipídico para formulação de alimentos funcionais, devido às propriedades benéficas à saúde desses ácidos graxos ômega-9 e ômega-6 (JOHNSON; BRADFORD, 2014; KATIYAR; ARORA, 2020; BHAT, 2021). A quantificação de proteínas sugere alto potencial nutricional e a presença de peptídeos que podem ser explorados no desenvolvimento de bioestimulantes (KAAPORE et al., 2021). Espectros de FTIR dos polissacarídeos confirmaram a presença de carboidratos, com bandas características, incluindo estiramentos de C–O–C e C–O em 1236 cm^{-1} , e picos em $1125\text{--}1000 \text{ cm}^{-1}$, indicativos de ácidos urônicos, componentes frequentes de polissacarídeos complexos (DEVI et al., 2021).

4. CONCLUSÕES

Este estudo explorou a biodiversidade de microalgas coletadas no campus Capão do Leão, na Universidade Federal de Pelotas, para bioprospecção de organismos para processos de biorremediação e extração de biocompostos de alto valor agregado. A partir da identificação e isolamento de dez espécies de microalgas, foi observada a capacidade de crescimento em efluentes com eficiência, especialmente pela espécie *Scenedesmus obliquus*, que demonstrou elevado potencial de aproveitamento de nutrientes desse efluente para o seu crescimento. O protocolo sequencial utilizado permitiu a extração e caracterização prévia de biomoléculas de interesse, revelando um perfil bioquímico relevante para o desenvolvimento de bioproductos sustentáveis. Os resultados reforçam a viabilidade da biorrefinaria integral de microalgas como uma abordagem promissora para a inovação sustentável, promovendo a economia circular e valorizando recursos biológicos locais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, R.A.; KAWACHI, M. Microalgae isolation techniques. *Algal Culturing Techniques*, v. 83, p. 92, 2005.
- BHALAMURUGAN, G.L.; VALERIE, O.; MARK, L. Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review. *Environmental Engineering Research*, v. 23, n. 3, p. 229-241, 2018.
- BHAT, S.S. Functional lipids as nutraceuticals: A review. *International Journal of Science and Healthcare Research*, v. 6, n. 4, p. 111-123, 2021.
- BICUDO, C.; MENEZES, M. *Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil: chave para identificação e descrições*, São Carlos, Rima, 2006.

- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.
- BOROWITZKA, M.A. The 'stress' concept in microalgal biology—homeostasis, acclimation and adaptation. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 2815-2825, 2018.
- CHEIRSILP, B.; MANEECHOTE, W. Insight on zero waste approach for sustainable microalgae biorefinery: Sequential fractionation, conversion and applications for high-to-low value-added products. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, p. 101003, 2022.
- CHEIRSILP, B., et al. Microalgae as tools for bio-circular-green economy: Zero-waste approaches for sustainable production and biorefineries of microalgal biomass. **Bioresource Technology**, p. 129620, 2023.
- CHENG, J.; FAN, W.; ZHENG, L.. Development of a mixotrophic cultivation strategy for simultaneous improvement of biomass and photosynthetic efficiency in freshwater microalga *Scenedesmus obliquus* by adding appropriate concentration of sodium acetate. **Biochemical Engineering Journal**, v. 176, p. 108177, 2021.
- DEVI, N.D.; TIWARI, R.; GOUD, V.V. Cultivating *Scenedesmus* sp. on substrata coated with cyanobacterial-derived extracellular polymeric substances for enhanced biomass productivity: a novel harvesting approach. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-13, 2021.
- DO, C.V.T. et al. Microalgae and bioremediation of domestic wastewater. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 34, p. 100595, 2022.
- FRASSINI, R. et al. Chemical characterization and cytotoxic activity of antarctic macroalgae extracts against colorectal cancer. **Advances in Biological Chemistry**, v. 9, n. 05, p. 167-177, 2019.
- GARDUÑO-SOLÓRZANO, G. et al. The phylogenetic placement of *Temnogametum* (Zygnemataceae) and description of *Temnogametum izardaleense* sp. nov., from a tropical high mountain lake in Mexico. **European Journal of Phycology**, v. 56, n. 2, p. 159-173, 2021.
- JOHNSON, M. A. C. B.; BRADFORD, C. Omega-3, omega-6 and omega-9 fatty acids: implications for cardiovascular and other diseases. **J Glycomics Lipidomics**, v. 4, n. 123, p. 2153-0637, 2014.
- KAPOORE, R.V.; WOOD, E.E.; LLEWELLYN, C.A.. Algae biostimulants: A critical look at microalgal biostimulants for sustainable agricultural practices. **Biotechnology Advances**, v. 49, p. 107754, 2021.
- KATIYAR, R.; ARORA, A.. Health promoting functional lipids from microalgae pool: A review. **Algal Research**, v. 46, p. 101800, 2020.
- LYNCH, J.M.; BARBANO, D.M. Kjeldahl nitrogen analysis as a reference method for protein determination in dairy products. **Journal of AOAC International**, v. 82, n. 6, p. 1389-1398, 1999.
- PASSOS, Larissa Souza et al. Chemical characterization of *Microcystis aeruginosa* for feed and energy uses. **Energies**, v. 14, n. 11, p. 3013, 2021.
- ROCHA, R.P. et al. Exploring the metabolic and physiological diversity of native microalgal strains (Chlorophyta) isolated from tropical freshwater reservoirs. **Algal Research**, v. 28, p. 139-150, 2017.
- TUCCI, A.. **Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras**. Instituto de Botânica: São Paulo, Brazil, 2012.
- UMMALYMA, S.B. et al. Sustainable microalgal biomass production in food industry wastewater for low-cost biorefinery products: a review. **Phytochemistry Reviews**, v. 22, n. 4, p. 969-991, 2023.
- WANG, S. et al. Integrated microalgal biorefinery—Routes, energy, economic and environmental perspectives. **Journal of Cleaner Production**, v. 348, p. 131245, 2022.
- YAN, C. et al. Microalgal bioremediation of heavy metal pollution in water: Recent advances, challenges, and prospects. **Chemosphere**, v. 286, p. 131870, 2022.