

# REVISÃO: BIOTECNOLOGIA DE MICROALGAS

FABIANO CLEBER BERTOLDI\*  
ERNANI SANT'ANNA\*\*  
JORGE LUIZ BARCELOS OLIVEIRA\*\*\*

---

Esta revisão de literatura teve como objetivo apresentar informações relacionadas com a biotecnologia de microalgas. Além do histórico e da importância das microalgas, foram abordadas as principais aplicações, composição bioquímica da biomassa algal, bioprodutos, tipos de cultivo e meios de cultura. Os temas revisados nesse trabalho evidenciaram que a biotecnologia de microalgas vem se desenvolvendo em função do potencial de industrialização de biomassa algal como suplemento alimentar. A biomassa destina-se às mais diversas aplicações como produção de proteína unicelular, lipídios, corantes, enzimas, antibióticos, carboidratos e vitaminas. Pode-se concluir que além da diversidade de aplicações, as microalgas estão relacionadas com cultivo de curto período de crescimento, pois se desenvolvem em poucos dias, requerendo cuidados simples e dispensam a utilização de agrotóxicos.

*PALAVRAS-CHAVE: ALIMENTOS FUNCIONAIS; BIOTECNOLOGIA; CORANTES NATURAIS; MICROALGAS; PROTEÍNA UNICELULAR.*

---

- \* Doutor em Ciência dos Alimentos, Professor titular, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade do Oeste da Santa Catarina, Videira, SC (e-mail: fabianobertoldi@hotmail.com).  
\*\* Doutor em Ciência dos Alimentos, Professor titular, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC (e-mail: ernanis@cca.ufsc.br).  
\*\*\* Doutor em Engenharia Agrícola, Professor Adjunto, Departamento de Engenharia Rural, UFSC, Florianópolis, SC (e-mail: jbarcelo@cca.ufsc.br).

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de microalgas como alimento por povos nativos já ocorria há séculos, destacando-se algumas espécies do gênero *Nostoc*, consumida na Ásia, e *Spirulina* consumida na África pelos Kanembous e no México pelos Astecas. As mulheres Kanembous colhiam a *Spirulina* no lago Chad, África, quando os ventos empurravam e aglomeravam as algas nas margens. Secavam a biomassa ao sol e, posteriormente, a amassavam com as mãos para moldar em blocos que cortavam em pequenos tabletes. Também preparavam o *dihé*, mistura de *Spirulina* com molho de tomate e temperos variados. Os Astecas colhiam *Spirulina* no Lago Texcoco, México, e a consumiam habitualmente com cereais sob a forma de molho conhecido como *chimolli* ou molho asteca (AARONSON, BERNER e DUBINSKY, 1980; DURAND-CHASTEL, 1980; CIFERRI e TIBONI, 1985; DILLON, PHUC e DUBACQ, 1995). Entretanto, o cultivo de microalgas despertou forte interesse há apenas algumas décadas. Durante o século XX, pesquisadores e produtores comerciais desenvolveram diversas tecnologias de cultivo para produzir biomassa de microalgas em tanques abertos e em fotobiorreatores fechados (APT e BEHRENS, 1999; TREDICI, 1999).

A produção comercial de microalgas teve início na década de 60 com espécies de *Chlorella* e *Spirulina*, como suplementos dietéticos, *Dunaliella salina* para obtenção de  $\beta$ -caroteno, *Haematococcus pluvialis* para produção de astaxantina e diversas outras espécies para aplicação na aquicultura. Nessa mesma década, as pesquisas em biotecnologia de microalgas concentravam-se na reciclagem de águas residuais, sua aplicação em programas espaciais de renovação atmosférica e fonte de alimento (BENEMAN, 1990).

As microalgas, sob o ponto de vista biotecnológico, não constituem grupo de microrganismos muito estudado. Dentre as dez mil espécies de microalgas que se acredita existirem, pouco mais de mil linhagens são mantidas em coleções ao redor do mundo, apenas algumas centenas foram investigadas por seu conteúdo químico e somente pequena quantidade tem sido cultivada em escala industrial. Por serem pouco exploradas, representam rica oportunidade para novas descobertas (ZAHNER e FIEDLER, 1995; OLAIZOLA, 2003).

As microalgas são microrganismos heterogêneos, usualmente microscópicos, unicelulares, coloniais ou filamentosos, coloridos e fotoautotróficos. Filogeneticamente, podem ser procarióticos ou eucarióticos (OLAIZOLA, 2003).

O cultivo de microalgas está crescendo gradativamente no mundo inteiro. A biomassa produzida destina-se às mais diversas aplicações como, produção de proteína unicelular, lipídios, carotenóides, clorofila, enzimas, ésteres, antibióticos, hidrocarbonetos e vitaminas (DURAND-CHASTEL, 1980; RICHMOND, 1988; BECKER, 1994; PULZ e GROSS, 2004; RICHMOND, 2004).

A principal aplicação da biotecnologia microalgal consiste na produção de suplementos alimentares. Entretanto, a aplicação com o objetivo de produzir esses suplementos e de extrair substâncias com valor comercial restringe-se principalmente a poucas espécies dos gêneros *Spirulina*, *Dunaliella*, *Chlorella* e *Dunaliella* (BECKER, 2004).

Existem evidências de que a ingestão de pequenas quantidades de biomassa microalgal (na maioria dos gêneros *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Spirulina*) pode afetar de forma positiva a fisiologia de animais, apresentando resposta imune não-específica e auxiliando o sistema imunológico (BELAY, 1993).

Várias espécies de microalgas vêm sendo cultivadas visando a obtenção de compostos considerados nutracêuticos, como os ácidos graxos poliinsaturados eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA) (GILL e VALIVETY, 1997; TRIPATHI et al., 1999).

A biomassa microalgal e os extratos de biomassa estão ganhando destaque no mercado mundial. O aumento na demanda de produtos de origem algal deve-se, principalmente, ao fato de apresentarem substâncias com efeitos antioxidantes, ácidos graxos polinsaturados (PUFA), proteínas imunologicamente efetivas e compostos virostáticos (COHEN, 1999).

O potencial biotecnológico e as técnicas de cultivo da microalga *Haematococcus pluvialis* geraram o desenvolvimento de processo para extração de corante natural com alto valor agregado, a

astaxantina. A adição desse corante na formulação de rações aumentou significativamente a coloração dos músculos de salmões (PICCARDI, MATERASSI e TREDICI, 1999).

Considerando aspectos relacionados à cadeia alimentar, as microalgas são de fundamental importância na aqüicultura e especialmente na maricultura. Constituem a fonte alimentar das larvas de várias espécies de crustáceos, moluscos e peixes (LAVENS e SORGELOOS, 1996).

A biotecnologia de microalgas também demonstrou versatilidade em outros setores, podendo atuar no tratamento de efluentes, biorremediando metais pesados, nitrogênio e fósforo que podem causar eutrofização quando descartados diretamente nos rios. A biomassa obtida nessa biorremediação pode servir como fonte de matéria-prima para produção de ração, fertilizantes, e até mesmo ser utilizada na indústria de química fina (DE LA NOÛE e DE PAUW, 1988).

O objetivo deste trabalho foi apresentar uma revisão sobre o histórico, a importância, as principais aplicações, a composição bioquímica e os bioprodutos obtidos a partir de microalgas, bem como abordar os tipos de cultivo e os meios de cultura utilizados para a produção desses microrganismos.

## 2 COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA E BIOPRODUTOS

O rápido crescimento populacional, aliado à limitação de terras cultiváveis e à fome são barreiras a serem quebradas. Opção que vem sendo muito estudada para amenizar esses problemas é a produção de proteína a partir de microrganismos, denominada de proteína unicelular (REHM e REED, 1995).

A maior parcela da proteína consumida pelo homem provém de fontes animal e vegetal. Apenas pequena parte é proveniente de origem não-convencional, como os microrganismos (BOBBIO e BOBBIO, 1992).

A procura por proteína leva o ser humano a investir na pecuária, principalmente na criação de gado, que consome áreas de solos imensas, tanto para pastagem como para a produção de cultivares destinadas à alimentação complementar desses animais. Outra opção para obtenção de proteína envolve a produção agrícola, dependente de melhoramento genético que exige elevados gastos com sementes, adubação do solo, pesticidas e irrigação (HENRIKSON, 1994).

Microalgas, fungos e bactérias são as principais fontes de proteína microbiana que podem ser utilizadas como proteína unicelular. Entre as microalgas, a do gênero *Spirulina* constitui a mais empregada como alimento em comunidades tribais de certas partes do mundo (SINGH, 1998).

Vários substratos têm sido utilizados para cultivar bactérias, fungos e microalgas. Os principais requisitos para o crescimento de algas são o dióxido de carbono e a luz solar. A utilidade da proteína unicelular, proveniente de qualquer fonte, é baseada na sua composição. Nutrientes como, vitaminas, nitrogênio, carboidratos, lipídios, corantes, componentes da parede celular, ácidos nucleicos, concentração de proteína e composição dos aminoácidos devem ser analisados antes do produto ser consumido como alimento ou suplemento por humanos e animais (ANUPAMA e RAVINDRA, 2000).

No processo de produção, a biomassa pode ser obtida mediante microrganismos cultivados em meio de cultura elaborados a partir de resíduos industriais ou agrícolas. Após o cultivo, a biomassa é submetida aos processos de lavagem, extração da proteína e purificação (FAUST, 1987).

Dentre os microrganismos, as microalgas apresentam inúmeras vantagens como fonte alternativa de proteína. São capazes de utilizar tanto carbono inorgânico como orgânico, contém entre 40 e 70% de teor protéico dependendo da espécie e apresentam tempo de geração curto. São produzidas de forma contínua, ocupam áreas pequenas de cultivo, podem ser passíveis de manipulação genética visando a obtenção da composição nutricional desejada e não estão sujeitas às variações ambientais. São facilmente controladas, não afetam drasticamente o meio ambiente pois não precisam de aplicação de pesticidas e apresentam multiplicação alta em pouco intervalo de tempo (BENEMAN, 1990).

*Spirulina* sp, quando cultivada em tanques rasos, produz 20 vezes mais proteínas do que a soja e 400 vezes mais do que a carne bovina utilizando a mesma área (HENRIKSON, 1989).

As microalgas, Segundo BECKER (1994), quando comparadas com alguns tipos de alimentos apresentam elevados teores de proteína e lipídios, atingindo valores de 71 e 22% em massa seca, respectivamente (Tabela 1).

**TABELA 1 - COMPARAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS USUAIS E A DE DIFERENTES BIOMASSAS DE MICROALGAS (% MASSA SECA)**

<b>Amostra</b>	<b>Proteína</b>	<b>Lipídios</b>
Carne	43	34
Leite	26	28
Arroz	8	2
Soja	37	20
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	14-22
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	4-7
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	21
<i>Dunaliella salina</i>	57	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	9-14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	12-14
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	6-7
<i>Synechococcus</i> sp.	63	11

Fonte: Adaptado de BECKER (1994).

Microalgas como, *Spirulina maxima* e *Spirulina platensis* apresentam em sua composição bioquímica elevadas concentrações de proteína unicelular e concentração de aminoácidos essenciais acima do padrão sugerido pela FAO (1985), indicando sua importância como fonte de proteína (SHIFRIN e CHISHOLM, 1981; METZER, DESCOULS e CASADO, 1983; HANSEN, 1984; HENRIKSON, 1994).

O aumento da produtividade da biomassa para obtenção de ácidos graxos insaturados vem despertando o interesse dos produtores, principalmente como fonte de  $\omega$ -3 (COHEN, NORMAN e HEIMER, 1995).

O teor de ácidos graxos polinsaturados produzidos pela microalga pode ser determinado pela espécie cultivada, concentração dos nutrientes do meio de cultura, fluxo de aeração, luminosidade, tempo do fotoperíodo e a temperatura do cultivo (TORRES, 1994; LOURENÇO, 1996).

As microalgas podem produzir até 30 vezes mais óleo do que a soja por unidade de área com destaque para a composição dos ácidos graxos presentes nesses microrganismos, na sua maioria insaturados (SKJAK-BRAEK, 1992). Estudos para avaliar o potencial de produção de ácidos graxos insaturados foram realizados com 153 espécies de microalgas de água doce da Tailândia e 26 linhagens originárias de outros países. As espécies de microalgas que apresentaram maior produtividade foram *Chlorella minutíssima* e *Phaedactylum tricorutum* (YONGMANITICHAI e WARD, 1991).

A produção de ácidos graxos por microalgas demonstra que as espécies podem ser bioquimicamente heterogêneas e que o conteúdo de ácidos graxos insaturados varia entre 35,4 a 49,2% (GRIMA et al., 1992).

O consumo de  $\omega$ -3 obtido de microalgas é benéfico para o desenvolvimento neural, além de prevenir problemas coronários, câncer, hipertensão, diabetes, fibrose cística, artrites, asma, esquizofrenia e depressão (SALEM, 1999; KRIS-ETHERTON, HARRIS e APPEL, 2002).

Em geral, as microalgas apresentam altas concentrações de lipídios que podem servir de matéria-prima para fabricação de detergentes, borracha, compostos graxos nitrogenados, graxa, tecidos, aditivos alimentares, cosméticos e medicamentos. A utilização desses lipídios poderá reduzir o uso de derivados do petróleo como fonte de energia e de gorduras animal e vegetal para o consumo humano (AARONSON e DUBINSKY, 1982).

Vários metabólitos vêm sendo extraídos e caracterizados a partir de microalgas, mostrando efetiva ação antiviral e antineoplasmáticas. Outro fator importante envolve os efeitos antioxidante e antimutagênico da clorofila e de alguns de seus derivados, como a clorofilina (AZIZAN e BLEVINS, 1995; BOROWITZKA, 1995; HIGASHI e OKAI, 1998).

As clorofilas são, praticamente, os únicos pigmentos naturais de coloração verde em abundância, mas sua instabilidade ao isolamento tem restringido sua utilização como corante natural pela indústria de alimentos. As clorofilas utilizadas como corantes alimentares provêm principalmente de plantas terrestres (TAYLOR, 1984; HENDRY, 1996).

Aproximadamente 75% da produção anual de biomassa microalgal foi direcionada para fabricação de suplemento alimentar. Esses produtos são manufaturados principalmente na forma de pó, tabletes e cápsulas (BELAY, 1993; BECKER, 2004).

Alguns produtos a base de extratos microalgais vêm sendo lançados no mercado de alimentos funcionais como, por exemplo, bebidas, iogurtes e massas (PULZ e GROSS, 2004).

Segundo OLAIZOLA (2003) há poucos bioprodutos derivados de microalgas disponíveis com altíssimo valor comercial. Provavelmente os mais conhecidos sejam  $\beta$ -caroteno (*Dunaliella*), DHA (*Cryptocodinium*) e astaxantina (*Haematococcus*).

### 3 PRINCIPAIS FATORES RELACIONADOS AO CULTIVO

A composição bioquímica da biomassa das microalgas não é determinada somente pela natureza de cada espécie algal, dependendo de fatores como, intensidade de luz, temperatura, pH, nutrientes e agitação (MIAO e WU, 2004).

Pesquisas relacionadas com a interação entre intensidade luminosa, temperatura, agitação e concentração de nutrientes podem contribuir para a otimização do cultivo, pois o crescimento de microalgas deriva de diversas reações bioquímicas e biológicas (DUARTE, 2001). O pH do meio também é importante no processo de cultivo, variando de neutro a alcalino para a maioria das espécies de microalgas (RAVEN, 1990).

Quando se trata de meio de cultura sintético, o alto custo dos nutrientes pode representar fator limitante para a produção. No caso de cultivos em meios de cultura alternativos (resíduos industriais ou agrícolas), os fatores limitantes para a produção de biomassa restringem-se à luz, temperatura e agitação da cultura (DUARTE, 2001). A luz é fundamental para o crescimento microalgal, pois atua como a principal fonte de energia no processo de produção de biomassa (LACAZ-RUIZ, 1996). A luminosidade induz a atividade enzimática, influenciando a síntese de proteína (RUYTERS, 1984; UMINO, SATOH e SHIRAIWA, 1991). O excesso de luz também pode provocar efeito letal nas células pela formação de peróxido de hidrogênio (substância tóxica para as microalgas) na presença de oxigênio. Tal reação é denominada foto-oxidação ou morte fotoxidativa (HIRAYAMA, UEDA e SUGATA, 1996).

Determinados organismos mantidos em temperaturas fisiológicas podem ser protegidos por alguns pigmentos, como os carotenóides. No entanto, algumas células (mesmo contendo carotenóides) não sobrevivem quando submetidas a foto-oxidação e baixas temperaturas. Tal fato indica que algumas enzimas reguladoras estão envolvidas nesse mecanismo de proteção das células (ABELIOVICH e SCHILO, 1972). Apesar disto, observa-se que sob alta intensidade de luz ocorre proteção da clorofila "a" em relação à foto-oxidação por meio dos carotenóides. Quando a intensidade da luz é menor, os carotenóides passam a agir como pigmentos acessórios, ou seja, captam a energia luminosa e a transferem para moléculas de clorofila (OLAIZOLA e DUERR, 1990).

Dentre os metabólitos microalgais, a clorofila foi muito pouco investigada. Sabe-se que o teor de clorofila na biomassa obtida de culturas sob baixa incidência de luz é maior do que em culturas sob iluminação intensa. Entretanto, o conteúdo máximo de clorofila é encontrado em níveis de iluminação intermediária (KEBEDE e AHLGREN, 1996).

Células sem carotenóides apresentaram sensibilidade a foto-oxidação, assim os níveis de

pigmentos intracelulares estão envolvidos na absorção da irradiação de luz (ABELIOVICH e SHILO, 1972; FOX, 1983). A fotossíntese de microalgas é afetada pela limitação de nutrientes (KOLBER, ZENH e FALKOWSKI, 1988; GREENE, GEIDER e FALKOWSKI, 1991; COLLIER e GROSSMAN, 1992). Assim, é possível afirmar que a velocidade de crescimento e a produtividade estão diretamente relacionadas com as exigências nutricionais, pH, agitação, temperatura e luz (intensidade e duração da irradiação luminosa) (TROTTA, 1981; JOHN e FLYNN, 2000; CARLOZZI e SACCHI, 2001; BABEL, TAKIZAWA e OZAKI, 2002; KAYOMBO et al., 2003; TUKAJ et al., 2003).

A temperatura pode influenciar o crescimento celular e a composição química das microalgas. Quando as células de *Chlorella*, por exemplo, são cultivadas em temperatura entre 25 e 35°C, o teor de proteína diminui e o de carboidratos aumenta (OGBONNA e TANAKA, 1996).

A agitação da cultura torna-se muito importante para otimizar todos os fatores essenciais relacionados à produção de biomassa de microalgas. A agitação da cultura, em meio líquido, mantém as células em suspensão evitando que algumas células fiquem depositadas no fundo do fotobiorreator e outras permaneçam na superfície recebendo luz em excesso (BECKER e VENKATARAMAN, 1984). Além disso, a agitação evita a foto-oxidação pela eliminação do oxigênio supersaturado no meio (RICHMOND et al., 1993).

As microalgas podem ser cultivadas autotroficamente em tanques abertos ou em fotobiorreatores com luz solar ou artificial e adição de nutrientes (BECKER, 1981). Para o cultivo laboratorial ou semi-industrial são utilizados fotobiorreatores. PIRT et al. (1983) foram os primeiros a indicar a possibilidade de utilização de reatores tubulares para a produção de biomassa de microrganismos fotossintetizantes e propuseram o desenho dos equipamentos. O maior benefício dos biorreatores consiste na redução do efeito de sombreamento entre os microrganismos (LACZ-RUIZ, 1996). A desvantagem dos reatores em relação aos tanques abertos está relacionada com os custos (DAY, EDWARDS e RODGERS, 1991; GLAUDE e MAXEY, 1994).

Usualmente, o cultivo de microalgas ocorre em tanques abertos com pequena profundidade visando assegurar adequada incidência de luz solar. Esses tanques podem ser de plástico, concreto, fibra de vidro, alvenaria ou laminados. Durante o inverno, os tanques devem ser cobertos para evitar variações de temperatura e impedir que a camada superficial do meio de cultura congele durante a noite em regiões temperadas e subtropicais. A cobertura também reduz as perdas do meio por evaporação e diminui a contaminação por insetos. A desvantagem de cultivos cobertos reside na diminuição da penetração da luz e possíveis condensações de água na superfície interna da cobertura prejudicam ainda mais a incidência da luz solar (BECKER, 1981).

O cultivo de microalgas em sistemas abertos, considerado uma forma de agricultura (ROUND, 1983), tem como benefício a luminosidade natural sem custos. No entanto, há o risco de contaminação por outros organismos que pode ser controlada com agitação e aumento do pH. Além disso, esses sistemas estão sujeitos a alterações de clima, luz e temperatura (BARCLAY, MEAGER e ABRIL, 1994; CHEN, 1997).

A produção de biomassa em tanques abertos ocorre em contínuo processo de propagação (SALINAS et al., 1986). O ideal é que os tanques sejam rasos com até 30 cm de profundidade (BECKER e VENKATARAMAN, 1984).

#### **4 MEIOS DE CULTURA E FONTES NUTRICIONAIS**

Os custos com reagentes químicos para elaboração do meio de cultura constitui um dos maiores problemas do cultivo de microalgas (SIPAÚBA-TAVARES, 1995). Segundo COZZA (1999), o custo do substrato para o cultivo de microrganismos para a produção de proteína unicelular e outros bioprodutos costuma representar de 40 a 60% do custo total.

Dentre os meios de culturas alternativos utilizados para a produção de biomassa de microalgas destacam-se: esgoto doméstico esterilizado (PIPES e GOTAAS, 1960), efluentes de biodigestores

(RODULFO, MARMOL e EMRALINO, 1980), lodo digerido (WONG e LAY, 1980), despejos industriais purificados (JUSSIAC, DUSZOTA e MYCIELSKI, 1984), vinhaça de cana-de-açúcar (OLIVEIRA, 1988), águas residuais da produção de azeite de oliva (SÁNCHEZ et al., 2001) e resíduos da suinocultura (RODRIGUES, 2000; TRAVIESO et al., 2006)

O carbono inorgânico, fundamental para o processo de fotossíntese, constitui fonte relacionada ao pH. Em pH abaixo de 5,0 apenas o CO<sub>2</sub> é consumido pela microalga, entre 7 e 9 o bicarbonato passa a ser importante e acima de 9,5 destaca-se o carbonato. O dióxido de carbono é a fonte de carbono normalmente utilizada, porém quando empregado acima de 10% ocorre inibição do crescimento algal (ROUND, 1983). Microalgas podem crescer autotroficamente utilizando luz e dióxido de carbono. Também podem ser cultivadas em sistema heterotrófico, usando compostos orgânicos como energia e fonte de carbono, ou ainda em sistema de cultivo mixotrófico. Nesse sistema usam-se simultaneamente a fonte luminosa e o substrato orgânico como fonte de energia, além de CO<sub>2</sub> e substrato orgânico como fontes de carbono (CHOJNACKA e MARQUEZ-ROCHA, 2004).

O nitrogênio, importante elemento para o metabolismo das microalgas, contribui para a formação de proteínas. A redução na quantidade de nitrogênio no meio de cultura possibilita que lipídios e carboidratos sejam sintetizados preferencialmente (RIGANO et al., 1998). Aumento na concentração de nitrogênio no meio de cultura pode elevar o teor de clorofila na biomassa microalgal. Foi observado que o conteúdo de clorofila na *Spirulina platensis* (em experimento cuja concentração de KNO<sub>3</sub> variou de 0,003 a 0,1% no meio de cultura) atingiu teor máximo de 0,5% no cultivo com 0,1% de KNO<sub>3</sub> (PIORRECK, BAASCH e POHL, 1984). Em outro estudo, houve redução da taxa fotossintética da microalga *Chlorella* sp. de acordo com a diminuição da fonte de nitrogênio do meio de cultura. No entanto, quando as células se recuperaram da deficiência de nitrogênio o teor de clorofila aumentou (SYRETT, 1992). A concentração de nitrogênio também afeta outros compostos das microalgas. Conforme experimento realizado por SHIFRIN e CHISHOLM (1981), o teor lipídico de diversas espécies de microalgas aumentou de duas a três vezes após quatro e nove dias na ausência de nitrogênio. Quando a fonte de nitrogênio apresenta-se na forma de nitrato, a microalga realiza gastos celulares energéticos para reduzir esse íon a nitrito através da enzima nitrato-redutase. Posteriormente, ocorre outra redução pela nitrito-redutase gerando a amônia (forma de nitrogênio utilizada pela alga em seu metabolismo) (CORNET, DUSSAP e GROS, 1998).

O fósforo é tão importante que pequenas quantidades no meio de cultura podem limitar o crescimento de algumas espécies de microalgas (ROUND, 1983). Cultivo de *Chlorella*, contendo 0,25 mg.L<sup>-1</sup> de fosfato apresentou 15,7% de proteína. Entretanto, com a elevação da concentração de fosfato para 0,50 mg.L<sup>-1</sup> a quantidade de proteína alcançou 37%. Assim, a quantidade de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> influencia a concentração de proteína (MAHASNEH, 1997). Em contra partida, a carência de fosfato no meio produz aumento no teor de lipídios na composição da biomassa seca (SIPAÚBA-TAVARES, 1995). O fósforo também atua como transportador de substratos ou energia química, pois faz parte dos ácidos nucleicos e das membranas (ROCHE et al., 1993).

## 5 CONCLUSÃO

Os aspectos e estudos abordados neste trabalho mostraram que a biotecnologia de microalgas apresenta amplas aplicações. Sob o ponto de vista biotecnológico, no entanto, as microalgas não são muito estudadas, representando rica oportunidade para novas descobertas.

A biomassa microalgal e os extratos de biomassa estão ganhando destaque no mercado mundial, devendo-se o aumento na demanda de produtos de origem algal, principalmente, ao fato de apresentarem substâncias com efeitos nutracêuticos.

Pode-se concluir que além da diversidade de aplicações, as microalgas são produzidas de forma contínua em curto período de cultivo e pequenas áreas, requerendo cuidados simples e dispensando a utilização de agrotóxicos.

## ABSTRACT

### REVIEW: MICROALGAE BIOTECHNOLOGY

This literature review aimed to show features related to microalgae biotechnology. In addition to the history review and importance of the microalgae, applications in food science, algae biomass biochemistry composition, bioproducts, cultivation types and culture medium were approached. The reviewed theme in this paper gives evidence that microalgae biology has been developing around the industrialization potential of algae biomass as food supplement. Produced biomass has several applications like production of single cell protein, lipids, pigments, enzymes, antibiotics, carbohydrates and vitamins. This review makes it possible to conclude that, other than diversity of applications, microalgae cultivation are related to a short growth period, as it grows in a matter of days, needing simple care and no making use of agricultural defensives utilization.

**KEY-WORDS:** FUNCTIONAL FOOD; BIOTECHNOLOGY; NATURAL PIGMENTS; MICROALGAE; SINGLE CELL PROTEIN.

## REFERÊNCIAS

- 1 AARONSON, S.; BERNER, T.; DUBINSKY, Z. Microalgae as a source of chemicals and natural products. In: SHELEF, G.; SOEDER, C.J. **Algae biomass**. Amsterdam: Elsevier Biochemical Press, 1980. p.576-601.
- 2 AARONSON, S.; DUBINSKY, Z. Mass production of microalgae. **Experientia Basel**, v.38, p.36-39, 1982.
- 3 ABELIOVICH, A.; SHILO, M. Photooxidative death in blue-green algae. **Journal of Bacteriology**, v.111, p.682-689, 1972.
- 4 ANUPAMA E.; RAVINDRA, P. Value-added food: single cell protein. **Biotechnology Advances**, v.18, p.459-479, 2000.
- 5 APT, K. E.; BEHRENS, P. W. Commercial developments in microalgal biotechnology. **Journal of Applied Phycology**, v.35, p.215-226,1999.
- 6 AZIZAN, A.; BLEVINS, R. D. Mutagenicity and antimutagenicity testing of six chemicals associated with the pungent properties of specific spices as revealed by the Ames Salmonella microsome assay. **Archive Environmental Contaminants Toxicology**, v.2, n.8, p.248-258, 1995.
- 7 BABEL, S.; TAKIZAWA, S.; OZAKI, H. Factors affecting seasonal of membrane filtration resistance caused by *Chlorella* algae. **Water Research**, v. 36, n.5, p.1193-1202, 2002
- 8 BARCLAY, W. R.; MEAGER, K. M.; ABRIL, J. R. Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acids utilizing algae and algae-like microorganisms. **Journal of Applied Phycology**, v.6, p.123-129, 1994.
- 9 BECKER, E. W. **Microalgae: biotechnology and microbiology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. 301 p.
- 10 \_\_\_\_\_. Algae mass cultivation – production and utilization. **Process Biochemistry**, v.16, n.5, p. 10-14, 1981.
- 11 \_\_\_\_\_. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. (Ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. London: Blackwell Science, 2004. p.312-351.
- 12 BECKER, W. E.; VENKATARAMAN, L. V. Production and utilization of the blue-green algae *Spirulina* in India. **Biomass**, v.4, p.105-125, 1984.
- 13 BELAY, A. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**, v.5, p.235-240, 1993.
- 14 BENEMAN, J. R. Microalgae products and production: an overview. **Journal of Industrial Microbiology**, v.31, n.5, p.247-256,1990.
- 15 BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. São Paulo: Varela, 1992.
- 16 BOROWITZKA, M. A. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. **Journal of Applied Phycology**, v.7, p.3-15, 1995.
- 17 CARLOZZI, P.; SACCHI, A. Biomass production and studies on *Rhodospseudomonas palustris* grown in an outdoor, temperature controlled, underwater tubular photobioreactor. **Journal of Biotechnology**, v.88 n. 3, p.239-249, 2001.



- 18 CHOJNACKA, K.; MARQUEZ-ROCHA, F. J. Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. **Biotechnology**, n.3, v.1, p.21-34, 2004.
- 19 CIFERRI, O.; TIBONI, O. The biochemistry and industrial potencial of *Spirulina*. **Annais Ver. Microbiology**, v.39, p.503-526, 1985.
- 20 COHEN, Z. **Chemicals from microalgae**. London: Taylor & Francis, 1999.
- 21 COHEN, Z.; NORMAN, H.; HEIMER, Y. M. Microalgae as source of  $\omega$ -3 fatty acids. **World Rev. Nutri. Diet. Basel.**, v.77, p.1-31, 1995.
- 22 COOLIER, J. L.; GROSSMAN, A. R. Chlorosis induced by nutrients deprivation in *Synechococcus* sp strain 7942: not all bleaching in the same. **Journal of Bacteriology**, v.174, p.4718-4726, 1992.
- 23 CORNET, J. F.; DUSSAP, C. G.; GROS, J. B. Kinetics and energetics of photosynthetic microorganisms in photobioreactors. Application to *Spirulina* growth. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v.59, p.155-223, 1998.
- 24 COZZA, K. L. ***Spirulina platensis* em meios naturais e sintéticos: fatores nutricionais e custos experimentais** Rio Grande, 1999. 204 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- 25 DAY, J. G.; EDWARDS, A. P.; RODGERS, G. A. Development of an industrial scale process for the heterotrophic production of a micro-algae mollusc feed. **Bioresource Technology**, v.38, p. 245-249, 1991.
- 26 DE LA NOÛE, J.; DE PAUW, N. The potencial of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. **Biotechnology Advances**, v.6, p.725-770, 1988.
- 27 DILLON, J.; PHUC, A. P.; DUBACQ, J. P. Nutritional value of the alga *Spirulina*. **Plants in Human Nutrition**, v.77, p.32-46, 1995.
- 28 DUARTE, I. C. S. **Influência do meio nutricional no crescimento e composição centesimal de *Chlorella* sp (Chlorophyta, Chlorococcales)**. Rio Claro 2001. 148 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- 29 DURAND-CHASTEL, H. Production and use of *Spirulina* in México. In: SHELEF, G.; SOEDER, C.J. **Algae biomass**. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1980. p.51-64.
- 30 FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Energy and protein requirements**. Geneva, 1985. 724 p.
- 31 FAUST, U. Production of microbial biomass. In: PRAVE, P.; FAUST, U.; SITTIG, W.; SUKATSCH, D. A. **Fundamentals of biotechnology**. Weinheim: VCH Publishers, 1987.
- 32 FOX, J. M. Intensive algal culture techniques. In: MCVEY, J. P. **Handbook of mariculture crustacean aquaculture**. Boca Raton: CRC Press, 1983. p.15-41.
- 33 GILL, I.; VALIVETY, R. Polyunsaturated fatty acids, part 1: occurrence, biological activities and applications. **Trends in Biotechnology**, v.15, p.401-409, 1997.
- 34 GLAUDE, R. M.; MAXEY, J. E. Microalgal feeds for aquaculture. **Journal of Applied Phycology**, v.6, p.131-141, 1994.
- 35 GREENE, R. M.; GEIDER, R. J.; FALKOWSKI, P. G. Effect of iron limitation on photosynthesis in a marine diatom. **Limnology and Oceanography**, v.36, n.8, p.1772-1782, 1991.
- 36 GRIMA, E. A. L.; PEREZ, S. A. J.; SANCHEZ, G. L. J.; CAMACHO, F. G. Fatty acid variation among different isolates of a single strain of *Isochrysis galbana*. **Phytochemistry**, v.31, n.11, p.3901-3904, 1992.
- 37 HANSEN, M. L. A. ***Spirulina*, un sorprendente suplemento dietético natural**. Mexico: Edaf Mexicana, 1984. 76 p.
- 38 HENDRY, G. A. F. Chlorophylls and chlorophyll derivatives. In: HENDRY, G.A.F.; HOUGHTON, J. D. **Natural food colorants**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Blackil Academic Professional, 1996. p. 131-155.
- 39 HENRIKSON, R. **Earth food *Spirulina***. California: Ronore Enterprises, 1989. 180 p.
- 40 \_\_\_\_\_. **Microalga *Spirulina*: superalimento del futuro**. Barcelona: Ediciones Urano, 1994. 222 p.
- 41 HIGASHI, O. K.; OKAI, Y. Potent suppressive activity of chlorophyll *a* and *b* from green tea (*Cammellia sinensis*) against tumor promotion in mouse skin. **Journal of UOEH**, v.20, n.3, p.181-188, 1998.
- 42 HIRAYAMA, S.; UEDA, R.; SUGATA, K. Evaluation of active oxygen effect on photosynthesis of *Chlorella vulgaris*. **Free Radical Research**, v.25, n.3, p.247-257, 1996.

- 43 JOHN, E. H.; FLYNN, K. J. Modelling phosphate transport and assimilation in microalgae, how much complexity is warranted? **Ecological Modelling**, v.125, p.145–157, 2000
- 44 JUSSIÁK, M. P.; DUSZOTA, K.; MYCIELSKI, R. Intensive culture of *Chlorella vulgaris* as the second stage on biological purification of nitrogen industry wastewater. **Water Research**, v.18, p.1-7, 1984.
- 45 KAYOMBO, S.; MBWETTE, T. S. A.; KATIMA, J. H. Y.; JORGENSEN, S. E. Effect of substrate concentration on the growth of heterotrophic bacteria and algae in secondary facultative ponds. **Water Research**, v.37, p. 2937–2943, 2003.
- 46 KEBEDE, E.; AHLGREN, G. Optimum growth conditions and light utilization efficiency of *Spirulina platensis* (*Arthrospira fusiformis*) (Cyanophyta) from Lake Chitu, Ethiopia. **Hydrobiologia**, Boston, v.332, p.99-109, 1996.
- 47 KOLBER, Z.; ZENH, J.; FALKOWSKI, P. G. Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthetic energy conversion in photosystem II. **Plant Physiology**, v.88, p.923-929, 1988.
- 48 KRIS-ETHERTON, P. M.; HARRIS, W. S.; APPEL, L. J. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. **Circulation**, v.106, p.2747-2757, 2002.
- 49 LACAZ-RUIZ, R. **Utilização de meios de cultura a base de solução de cinzas, efluente da indústria cítrica e meios de cultura alternativos formulados através de programa específico de computação para cultivo de *Spirulina platensis* (Norst.)**. Rio Claro, 1996. 133 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- 50 LAVENS, P.; SORGELOOS, P. Manual on the production and use of life food for aquaculture. **FAO Fisc Tech. Pap.**, v.361, p.7-42, 1996.
- 51 LOURENÇO, S. O. **Variação da composição bioquímica de microalgas marinhas em cultivos com ênfase nos efeitos da disponibilidade do elemento nitrogênio**. São Paulo 1996. 164 p. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo.
- 52 MAHASNEH, I. A. Production of single cell protein from five strains of the microalga *Chlorella sp* (Chlorophyta). **Cytobios**, v.90, p.153-161, 1997.
- 53 METZER, P.; DESCOULS, N.; CASADO, N. **Microalgae as a source of triglycerides in energy from biomass**. London: Applied Science Publishers, 1983. 339 p.
- 54 MIAO, X.; WU, Q. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. **Journal of Biotechnology**, v.110, p.85-93, 2004.
- 55 OGBONNA, J. C.; TANAKA, H. Night biomass loss and changes in biochemical composition of cells during light/dark cyclic culture of *Chlorella pyrenoidosa*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v.82, n.6, p.558-564, 1996.
- 56 OLAIZOLA, M. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. **Biomolecular Engineering**, v.20, p.459-466, 2003.
- 57 OLAIZOLA, M.; DUERR, E. O. Effects of light intensity and quality on the growth rate and photosynthetic pigment content of *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**, v.2, n.2, p.97-104, 1990.
- 58 OLIVEIRA, H. T. **Utilização de vinhaça como meio de cultura para *Chlorella vulgaris***. São Carlos, 1988. 146 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos.
- 59 PICCARDI, R.; MATERASSI, R.; TREDICI, M. **Algae and human affairs in the 21<sup>st</sup> century**. Firenze: Universita Degli Studi de Firenze, 1999. 132 p.
- 60 PIORRECK, M.; BAASCH, K.; POHL, P. Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. **Phytochemistry**, v.23, p.207-216, 1984.
- 61 PIPES, W. O.; GOTAAS, H. B. Utilization of organic matter by *Chlorella* grown in sewage. **Applied Microbiology**, v.8, p.163-169, 1960.
- 62 PIRT, J. S.; LEE, Y. K.; WALACH, M. R.; PIRT, M. W.; BALYUZI, H. H. M.; BAZIN, M. J. A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: desing and performance. **Journal of Chemistry**, v.33B, p.35-58, 1983.
- 63 PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.65, n.6, p.635-648, 2004.
- 64 RAVEN, J. A. Sensing pH? **Plant, Cell and Environment**, v.13, p.721-729, 1990.
- 65 REHM, H. J.; REED, G. Enzymes, biomass, food and feed. **Biotechnology Multi Volume Comprehensive Treatise**, v.9, p.170-215, 1995.

- 66 RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. 566 p.
- 67 \_\_\_\_\_. *Spirulina*. In: BOROWITZKA, M. A, BOROWITZKA, L. J. **Microalgal biotechnology**. New York: Cambridge University Press, 1988. p. 85-119.
- 68 RIGANO, V. D. M.; VONA, V.; ESPORITO, S.; CARILLO, P.; CARFAGNA, S.; RIGANO, C. The physiological significance of light and dark  $\text{NH}_4^+$  metabolism in *Chlorella sorokiniana*. **Phytochemistry**, v.47, p.177-181, 1998.
- 69 ROCHE, J. L.; GLEIDER, R. J.; GRAZIANO, L. M.; MURRAY, H.; LEWIS, K. Introduction of specific protein in eukaryotic algae grown under iron-phosphorus or nitrogen-deficient conditions. **Journal of Phycology**, v.29, p.767-777, 1993.
- 70 RODRIGUES, J. B. R. **Eficiência do crescimento da microalga *Chlorella minutissima* e sua aplicação em resíduos de suinocultura – valorização e tratamento**. São Carlos, 2000. 118 p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos.
- 71 RODULFO, B. R.; MARMOL, N. H. R.; EMRALINO, G. A. Production of *Chlorella* in clarified effluent from hog manure biogas digester. **Phillipp Journal Science**, v.109, p.51-58, 1980.
- 72 ROUND, F. E. **Biologia das algas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1983.
- 73 RUYTERS, G. Effects of blue light on enzymes. In: BLUE light effects in biological systems. Berlin: Springer-Verlag, 1984. p.283-301.
- 74 SALEM, N. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, v.3, p.1-8, 1999.
- 75 SALINAS, D. H. L.; MICHEL, J. P.; RAMINEZ, L. F. B.; MACHUCA, C. G. **Manual de metodologia y alternativas para el cultivo de microalgas** Enseada: Centro de Investigación Científica y de Estudios Superiores de Enseada, 1986. 89 p.
- 76 SÁNCHEZ, S.; MARTÍNEZ, M. E.; ESPEJO, M. T. PACHECO, R.; ESPINOLA, F.; HODAIFA, G. Mixotrophic culture of *Chlorella pyrenoidosa* with olive-mill wastewater as the nutrient medium. **Journal of Applied Phycology**, v. 13, p.443-449, 2001.
- 77 SHIFRIN, N. S.; CHISHOLM, S. W. Phytoplankton lipids: inespecific differences and effects of nitrate, silicate and light dark cycles. **Journal of Phycology**. v.17, p.374-384, 1981.
- 78 SINGH, B. D. **Biotechnology**. New Delhi: Kalyani Publishers, 1998. p. 498-510.
- 79 SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. (Boletim Técnico, 1).
- 80 SKJAK-BRAEK, G. Alginates – biosynthesis and some structure function relationships relevant to biomedical and biotechnological applications. **Biochemical Society Transactions**, v.20, p.27-33, 1992.
- 81 SYRETT, P. J. Nitrogen assimilation. In:\_\_\_\_\_. **Physiology and biochemistry of algae**. New York: Academic Press, 1992. p. 171-183.
- 82 TAYLOR, A. J. Natural colours in food. In: WALFORD, J. **Developments in food colours**. Manchester: Elsevier Applied Science Publishers, 1984. v.2, p.159-206,
- 83 TORRES, C. G. **Influência da concentração de nitrogênio na produção de lipídios e ácido gama-linolênico em *Spirulina maxima***. Rio de Janeiro, 1994. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- 84 TRAVIESO, L.; BENÍTEZ, F.; SÁNCHEZ, E.; BORJA, R.; MARTÍN, A.; COLMENAREJO, M. F. Batch mixed culture of *Chlorella vulgaris* using settled and diluted piggery waste. **Ecological Engineering**, 2006. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com> >. Acesso em : 30 ago. 2006.
- 85 TREDICI, M. Photobioreactors In: FLICKINGER, M. C.; DREW, S. W. **Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis, and bioseparation**. New York: Wiley & Sons, 1999. p.395-419.
- 86 TRIPATHI, U.; SARADA, R.; RAO, S. R; RAVISHANKAR, G. A. Production of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* cultured in various media. **Bioresource Technology**, v.68, n.2, p.197-199, 1999.
- 87 TROTTA, P. A simple and inexpensive system for continuous monoxenic mass culture of marine microalgae. **Aquaculture**, v.22, p.383-387, 1981.
- 88 TUKAJ, Z.; MATUSIAK-MIKULIN, K.; LEWANDOWSKA, J.; SZURKOWSKI, J. Changes in the pigment patterns and the photosynthetic activity during a light-induced cell cycle of the green algae *Scenedesmus armatus*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.41, p.337-344, 2003.
- 89 UMINO, Y.; SATOH, A.; SHIRAIWA, Y. Factors controlling induction of external carbonic anhydrase and charge in  $\text{K}_{1/2}(\text{CO}_2)$  of photosynthesis in *C. vulgaris*. **Plant and Cell Physiology**, v. 32, p.379-384, 1991.

- 90 WONG, M. H.; LAY, C. C. The comparison of soybean wastes using tea leaves and sewage sludge for growing *Chlorella pyrenoidosa*. **Environmental Pollution**, v.23, p.247-259, 1980.
- 91 YONGMANITCHAI, W.; WARD, P. O. Screening of algae for potential alternative sources of eicosapentanoic acid. **Phytochemistry**, v.30, n.8, p.2963-2967, 1991.
- 92 ZAHNER, H.; FIEDLER, H. P. The need for new antibiotics: possible ways forward. In: HUNTER, P. A.; DARBY, G. K.; RUSSELL, N. J. **Fifty years of antimicrobials**: past perspectives and future trends. Cambridge: University Press, 1995. p.67-84.