



ALGAS CULTIVÁVEIS E SUA APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA

MIRELA ASSUNÇÃO SIMÕES
SUZAN DINIZ SANTOS
DALIELLI MATIAS DE MACÊDO DANTAS
E AFREDO OLIVERA GÁLVEZ

Mirela Assunção Simões
Suzan Diniz Santos
Danielli de Matias de Macedo Dantas
Alfredo Olivera Gálvez

ALGAS CULTIVÁVEIS E SUA APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA

1ª edição



**INSTITUTO
FEDERAL**
Sergipe

ALGAS CULTIVÁVEIS E SUA APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA

*Mirela Assunção Simões, Suzan Diniz Santos, Danielli de Matias de
Macedo Dantas e Alfredo Olivera Gálvez*

Editor Chefe: Igor Adriano de Oliveira Reis

Conselho editorial: EDIFS

Projeto gráfico e diagramação: Thiago Guimarães Estácio

Nenhuma parte dessa obra pode ser utilizada ou reproduzida sem
autorização dos editores.

©2016 by Mirela Assunção Simões, Suzan Diniz Santos, Danielli de Matias
de Macedo Dantas e Alfredo Olivera Gálvez

Dados internacionais de Catalogação na publicação (CIP)

A394 Algas cultiváveis e sua aplicação biotecnológica [recurso eletrônico] /
Mirela Assunção Simões... [et al.]. – Aracaju: IFS, 2016.
91 p. : il.

Formato: e-book
ISBN 978-85-68801-37-6

1. Algas - cultivo. 2. Biotecnologia - algas. I. Simões, Mirela
Assunção. II. Santos, Suzan Diniz. III. Dantas, Danielli de Matias de
Macedo. IV. Gálvez, Alfredo Oliveira.

CDU: 582.27

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Célia Aparecida Santos de Araújo

CRB 5/1030

IFS

Avenida Jorge Amado, 1551 - Loteamento Garcia Bairro Jardins - Aracaju / Sergipe.
CEP: 49025-330 TEL: 55 (79) 3711-1437. E-mail: edifs@ifs.edu.br.

Publicado no Brasil – 2016



Ministério da Educação

**Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia de Sergipe**

Presidente da República

Michel Temer

Ministro da Educação

Mendonça Filho

Secretário da Educação Profissional e Tecnológica

Marcos Antônio Viegas Filho

Reitor do IFS

Ailton Ribeiro de Oliveira

Pró-reitora de Pesquisa e Extensão

Ruth Sales Gama de Andrade

SUMÁRIO

2. INTRODUÇÃO	8
3. CAPÍTULO I – MICROALGAS	11
3.1. MICROALGAS: TAXONOMIA, BIOLOGIA E HISTÓRICO	11
3.2. BIOTECNOLÓGICA DAS MICROALGAS	17
3.2.1. COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADES BIOLÓGICAS	17
3.2.2. APLICAÇÃO BIOTECNOLOGIA GERAL	22
3.2.3. APLICAÇÃO FARMACÊUTICA E COSMÉTICOS	23
3.2.4. APLICAÇÃO ALIMENTÍCIA.....	24
3.2.5. BIOCOMBUSTÍVEIS	25
3.2.6. BIORREMEDIAÇÃO	26
3.2.7. AVANÇOS NA GENÉTICA MOLECULAR DE MICROALGA.....	27
3.3. ESPÉCIES DE MICROALGAS CULTIVÁVEIS	29
3.3.1. PRODUÇÃO MUNDIAL	32
3.3.2. PRODUÇÃO NO BRASIL.....	33
3.4. SISTEMAS DE CULTIVO DAS MICROALGAS	34
3.4.1. TIPOS DE CULTIVO.....	34
3.4.2. OBTENÇÃO DE BIOMASSA.....	37
3.5. PATENTES DE PROCESSOS E PRODUTOS COM MICROALGAS.....	38
DEPÓSITO DE PATENTE: BEBIDA ALCOÓLICA FUNCIONAL DE MICROALGA: PROCESSO DE CULTIVO E PRODUÇÃO	41
RELATÓRIO DESCRITIVO DA PATENTE DE INVENÇÃO..	41
CAMPO DA INVENÇÃO	41
RESUMO	41
DESCRIÇÃO DO ESTADO DA TÉCNICA	42
APRESENTAÇÃO DOS PROBLEMAS EXISTENTES	45
APRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO EM LINHAS GERAIS	46

SUMÁRIO DA INVENÇÃO	47
DESCRIÇÃO DETALHADA DO INVENTO	48
REIVINDICAÇÃO	53
3.6. POSSIBILIDADE DE APLICAÇÃO DO CULTIVO DE MICROALGAS NO ESTADO DE SERGIPE	54
3.7. REFERÊNCIAS	55
4. CAPÍTULO II – MACROALGAS.....	67
4.1. HISTÓRICO, BIOLOGIA E TAXONOMIA DAS MACROALGAS	67
4.2. MACROALGAS: PRODUÇÃO, CULTIVO E AQUICULTURA	68
4.3. APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA GERAL DAS MACROALGAS	72
Aplicação farmacêutica e cosméticos	73
Biorremediação	73
Avanços na genética molecular de macroalga	78
4.4. BUSCA DE PATENTES ENVOLVENDO ALGAS NO BRASIL.....	79
4.5. PARTE DA DISSERTAÇÃO “ESTUDO DE CULTIVO E DE BIOMOLÉCULAS DA MACROALGA GRACILARIA BIRDIAE (RHODOPHYTA, GRACILARIALES)” ENVOLVENDO SISTEMA DE CULTIVO	81
4.5.1. CULTIVO DA MACROALGA <i>G. birdiae</i> NA PRAIA DE PAU AMARELO	81
MATERIAIS E MÉTODOS	81
OBTENÇÃO DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS	85
PARÂMETROS DE CRESCIMENTO: BIOMASSA E TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO (TCR)	86
RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
VARIÁVEIS ABIÓTICAS	86
VARIACÃO DA BIOMASSA	89
TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO (TCR)	90
CONCLUSÃO	92
4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

1. Apresentação

Este livro é resultado de uma vontade em buscar proporcionar, outra forma de apresentação e, de divulgação, que possa disseminar e aumentar o alcance de um público maior a informações levantadas e trabalhadas durante alguns anos por pesquisadores envolvidos no tema de algas cultiváveis.

O texto está baseado em uma tese e dissertação realizada pelos autores, apresentando no primeiro capítulo, uma revisão resultante da tese que inclui: Taxonomia, Biologia, Histórico, Aspectos Biotecnológicos, Produção, Sistemas de Cultivos e uma relação de algumas Patentes Envolvendo Tecnologia e Produtos das Microalgas, além de uma breve colocação a respeito das perspectivas e condições para cultivo destas no estado de Sergipe. O segundo capítulo é composto pelo de tema Macroalgas: Biologia, cultivo, produção biotecnológica, entre outros, e por parte de uma dissertação, a qual contém informações relevantes referentes a um sistema de cultivo de macroalgas desenvolvido no litoral de pernambucano, assim como perspectivas e condições para cultivo das mesmas macroalgas no estado de Sergipe.

O livro destina-se a alunos e aos professores envolvidos em disciplinas na área de aquicultura e pesca ou correlata, auxiliado no seu ensino e aprendizagem, como também, a todos que se interessam conhecer um pouco mais sobre algas cultiváveis.

2. INTRODUÇÃO

Em ficologia aplicada, o termo microalga é utilizado de uma forma geral para designar algas eucarióticas e cianobactérias procarióticas, microorganismos fotossintéticos filamentosos ou unicelulares. (MASOJÍDEK, et al 2010). Sob o ponto de vista biotecnológico, não constituem um 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 (algumas toneladas por ano). Desta forma, representam uma oportunidade para novas descobertas (OLAIZOLA, 2003).

Estes organismos possuem importância biológica, ecológica e econômica. Em termos biológicos, o valor deste grupo de organismos reside na estruturação da atual atmosfera terrestre, possibilitando a vida sobre a superfície da Terra dos seres vivos aeróbicos. Ao passo que o fato de constituírem-se em produtores primários atribui às algas a importância ecológica na medida em que estas sustentam a vida nos mares e oceanos desempenhando, assim, um papel ecológico fundamental na manutenção destes ecossistemas. Já a importância econômica é determinada pela diversidade de usos das algas em vários países no mundo, desde a indústria alimentícia, medicamentos, imunestimulantes, cosmética à dos biocombustíveis (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004).

Tanto a utilização da biomassa in natura ou dos extratos algais das mais diversas classes, têm demonstrado resultados promissores nos diferentes interesses econômicos, principalmente nas indústrias nutracêutica e farmacêutica.

De um modo geral, as macroalgas marinhas apresentam grande diversidade referente ao seu modo de vida. A maioria vive fixa a substrato sólido, sobretudo rochas ou corais mortos, embora algumas espécies apresentem adaptações para crescerem sobre o substrato não consolidado como fundos areno-lodosos (Oliveira, 2002). As macroalgas da Divisão Rhodophyta, apresentam em especial, maior riqueza de táxons de valor econômico, principalmente os gêneros *Digenia*, *Gracilaria*, *Gelidiella*, *Gelidium*, *Hypnea* e *Pterocladia* (Marinho-Soriano, 1999). Segundo Bellorin (2002) a macroalga *Gracilaria* é o gênero mais bem representado de algas vermelhas, com mais de 100 espécies reconhecidas e, além disso, se distribuem na maior parte dos mares tropicais e temperados do mundo (Oliveira e Plastino, 1994). Desta forma, esse gênero destaca-se por ser a principal fonte mundial de ágar (Oliveira e Aveal, 1990; Oliveira et al., 2000).

A biomassa algal para uso industrial pode ser proveniente de bancos naturais (extrativismo) ou de cultivo. Entretanto, a sustentabilidade da indústria de macroalgas reside nos cultivos, uma vez que os bancos naturais não são suficientes para atender a crescente demanda que vem sendo intensificada nas últimas décadas, principalmente na produção de ficocolóides e para o uso na alimentação (Critchley, 1997; Oliveira et al., 2000). A produção mundial de algas atingiu 15,1 milhões de toneladas no ano de 2006 que correspondeu a 7.200 milhões de dólares. O cultivo de algas tem crescido de maneira cons-

tante a um ritmo médio anual de 8% desde 1970, com isso já representa 93% da produção total mundial de algas. A China destaca-se como maior produtor de algas, sendo responsável por cerca de 72% da produção mundial (10,9 milhões de toneladas) seguem como importantes produtores as Filipinas (1,5 milhões de toneladas), a Indonésia (0,91 milhões de toneladas), a República da Coreia (0,77 milhões de toneladas) e o Japão (0,49 milhões de toneladas). Apesar do Japão ser o quinto maior produtor de algas em relação ao volume produzido ele é o segundo em receita gerada pela produção de algas, devido ao alto valor comercial da nori (*Porphyra tenera*), principal espécie cultivada neste país. (FAO, 2008). Dessa forma, a opção de cultivo torna-se a alternativa mais interessante, pois diminui a pressão sobre os estoques naturais além de ser um potencial para o desenvolvimento das regiões costeiras (Marinho-Soriano, 2005).

3. CAPÍTULO I – MICROALGAS

3.1. MICROALGAS: TAXONOMIA, BIOLOGIA E HISTÓRICO

As microalgas foram os primeiros organismos capazes de realizar fotossíntese e um dos principais agentes responsáveis pela criação da atual atmosfera terrestre. São fundamentais para o equilíbrio planetário, uma vez que a dinâmica do dióxido de carbono na Terra é em grande parte determinado por estes organismos que são responsáveis por mais da metade da atividade fotos-

sintética de todo planeta. Muitas das substâncias sintetizadas e acumuladas pelas microalgas são também encontradas nas plantas, as quais evoluíram das algas verdes ou clorófitas (RAVEN et al., 2001). Adicionalmente, desempenham um papel importante na transferência de energia ao longo da cadeia trófica, por serem produtoras primárias e, portanto responsáveis pela base na alimentação de outros organismos aquáticos. Portanto, as algas são consideradas uma rica fonte natural de metabólitos secundários, incluindo nutrientes funcionais e peptídeos bioativos. Estes fatores, associados às suas atividades biológicas e seus efeitos na saúde, têm despertado o interesse de muitos cientistas (KIM & WIJESEKARA, 2010).

Combinam típicas propriedades de plantas superiores (fotossíntese aeróbica eficiente e simplicidade de requisitos nutricionais) com atributos biotecnológicos característicos de células microbianas (crescimento rápido em cultura líquida e capacidade para acumular ou secreta alguns metabólitos). Esta particular combinação apoia a utilização desses microrganismos para processos aplicados e representa a base da biotecnologia de microalgas (CAMPOS et al., 2007)

Segundo Olaizola (2003) para ser designado microalga, o organismo necessita ser normalmente microscópico, unicelular (mas pode ser colonial, com pequena ou não diferenciação celular), apresentar coloração (devido aos pigmentos acessórios e fotossintéticos), ocorrer principalmente em água (mas não necessariamente), e provavelmente ser fotoautotrófico (mas não necessariamente o tempo todo).

A classificação taxonômica das algas é bastante extensa, pois exibem uma enorme diversidade de espécies, com representantes de formas unicelulares que possuem desde micro a milímetros de diâmetro, células em colônia, filamentos até folhas e talos com diferenciações complexas. As algas são divididas em algumas classes principais onde a separação clássica inicialmente foi baseada no tipo de pigmento: Cyanophyceae (azul-esverdeada), Rhodophyceae (vermelho), Phaeophyceae (marrom), Chrisophyceae (marrom dourado), Bacillariophyceae (diatomáceas), Chlorophyceae (verde), e Xanthophyceae (verde-amarelo). A sistemática moderna mantém estes grandes grupos, mas conta com a classificação atualizada com base na análise de pigmento por cromatografia líquida, assim como outras características, tais como produtos de armazenamento metabólico, flagelação, estrutura e componentes da parede celular. Nos últimos anos, as técnicas modernas de biologia molecular têm sido utilizadas para confirmar ou alterar a classificação anterior de

algas e tornaram-se uma ferramenta promissora para explorar seus produtos (BEN-AMOTZ 2009).

As Clorófitas, ou algas verdes, envolvem um grupo amplo de organismos com uma enorme variabilidade morfológica variando de formas microscópicas a macroscópicas, compreendendo quatro classes: Micromonadophyceae, Carophyceae, Ulvophyceae e Chlorophyceae. Possuem clorofila a e b e vários carotenoides, que podem ser sintetizados e acumulados fora do cloroplasto sob condições de deficiência de nitrogênio e/ou outro tipo estresse, conferindo a alga uma cor laranja ou vermelho. O produto de armazenamento é o amido, composto de amilose e amilopectina, que ao contrário das outras algas, é formado no interior do cloroplasto. A parede celular geralmente contém celulose. O grupo inclui organismos cocóides, flagelados unicelulares ou coloniais, filamentos multicelulares ou multinucleados. A maioria das espécies têm estágios flagelados com o flagelo apicalmente inserido dentro da célula, com o sistema radicular flagelar fundeado com quatro séries de microtúbulos. As algas verdes são cosmopolitas, sendo principalmente dulciaquícolas, mas um grande número de espécies também se desenvolvem em habitats marinho, terrestre e subaéreo. Algumas espécies ocorrem em associações simbióticas, geralmente com líquens. A exploração comercial de algas verdes microscópicas compreende relativamente poucos gêneros da classe Chlorophyceae entre os quais: *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus* e *Botryococcus braunii* (TOMASELLI, 2008).

A espécie *Chlorella vulgaris* é uma alga unicelular dulciaquícola pertencente à classe Chlorophyceae, ordem Chlorococcales e família Oocystaceae (Figura 1). Apresenta forma de vida celular ou colonial, e pode acumular pigmentos como clorofila a e b, β -caroteno e xantofilas e sua principal fonte de reserva energética é o amido (WILSON & HUNER, 2000). O gênero *Chlorella* (Chlorophyta) é um gênero cosmopolita com pequenas células globulares (3–8 μm em diâmetro), que inclui espécies com tolerância a altas temperaturas, já que algumas podem crescer entre 15°C e 40°C. Frequentemente é utilizada como suplemento alimentar e alimento saudável, assim como na indústria de cosmético e farmacêutica. Contém em sua composição proteínas, carotenóides, alguns imunoestimuladores, polissacarídeos, vitaminas e minerais (MASOJÍDEK et al 2010). Possui altas produtividades, o que a caracteriza um dos organismos mais comumente utilizados na produção de biomassa de algas (GÖRS et al., 2009).

Scenedesmus subspicatus pertence à classe Chlorophyceae, Ordem Chlorococcales e família Scenedesmaceae (ALGAEBASE, 2008) (Figura 2). Esta espécie é cosmopolita, apresenta altas taxas de crescimento e é bastante utilizada como um organismo modelo para estudos toxicológicos (BEHRA et al, 1999, MA et al., 2003, WIND & BELARGER, 2006, DAUS et al 2010, GÜÇLÜ e ERTAN, 2012). Similar ao gênero *Chlorella* cepas de *Scenedesmus* podem produzir, no cultivo em larga escala, uma biomassa com um conteúdo de 50-56% de proteína (SOEDER & HEGEWALD, 1988) . Apesar do potencial desta espécie, sua utilização comercial para outras finalidades é recente, havendo apenas alguns registros de estudos fisiológicos visando sua aplicação na alimentação de organismos aquáticos (LÜRLING, 1997), assim como na produção de biocombustíveis (SIGEE et al, 2007 e DEAN et al., 2010).

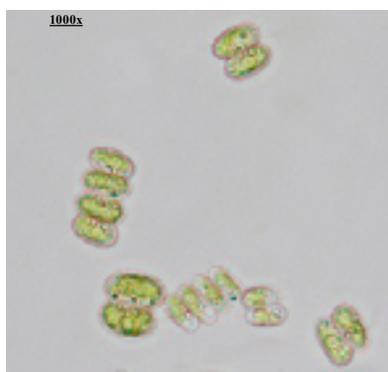
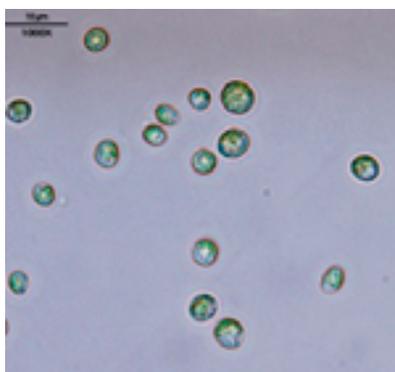


Figura 1: *Chlorella vulgaris* (UTEX, 2012) Figura 2: *Scenedesmus subspicatus* (UTEX, 2012)

Ao longo da história, os microorganismos vêm sendo empregadas para diversas finalidades, sendo a mais antiga, sua utilização para alimentação de humanos e animais. A *Spirulina* (*Arthrospira*), um organismo procariótico microscópico (cianobactéria), tem sido utilizada na alimentação humana há no mínimo 700 anos. Sua origem remontam aos americanos nativos (lago Texcoco, México) e africanos (lago Chade), onde eram usadas como fonte alternativa de proteínas (teor de proteína > 50%) (BATISTA et al., 2011).

No entanto, o cultivo comercial de microalgas teve início há apenas algumas décadas (OLAIZOLA, 2003). A produção em escala industrial iniciou na Alemanha durante a Segunda Guerra Mundial, como fonte acessível de proteínas (já que a carne animal era um bem escasso) (SOEDER, 1986) e com o início do cultivo massivo das diatomáceas, que mostravam a capacidade de

acumular grandes quantidades de lipídeos em certas condições de cultivo. O consumo destes organismos destacou-se nos países asiáticos, onde desde os anos 60 a microalga *Chlorella* ainda é comercializada com êxito, consumida como um produto além de nutricional também medicinal (RICHMOND, 2004). Após a Segunda Guerra Mundial, as microalgas passaram então a ser visualizadas como promissoras na substituição das proteínas animais na alimentação humana por vários grupos de pesquisa durante os anos 70 e 80, mais especificamente nos EUA, Alemanha, Israel, Checoslováquia, Japão, Tailândia e França. Com o início da crise energética, estes organismos também foram sugeridos como uma fonte de biomassa para produção do metano (CHAUMONT, 1993).

Os primeiros produtos comerciais provenientes de algas foram polissacarídeos extraídos de macroalgas e utilizados como fonte de ficocolóides. Na sequência da introdução de algas para uso humano nos princípios do século 17, o mercado mundial expandiu oferecendo diversos produtos de algas em uma ampla variedade de aplicações. A utilização de microalgas entrou no mercado só depois no final do século passado, quando a tecnologia de cultivo e coleta deste organismo unicelular foi desenvolvida. Quatro espécies de microalgas (*Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella* e *Nannochloropsis*) atingiram o nível de produção em cultivo em larga escala aberto, enquanto que mais algumas espécies unicelulares foram ampliados com sucesso em sistema de cultivo em bioreatores fechados (BEN-AMOTZ, 2009).

Vantagens potenciais de algas como matéria-prima para diversos fins na biotecnologia incluem a sua capacidade de: sintetizar e acumular grandes quantidades de lipídeo neutro / óleo (20-50% do peso seco), crescimento a taxas elevadas (por exemplo, duplica de 1-3 vezes por dia), toleram regiões que não são adequados para a agricultura convencional (por exemplo, solos do deserto, árido e semi-árido), utilizar os nutrientes para o crescimento, tais como nitrogênio e fósforo a partir de uma variedade de fontes de águas residuais, proporcionando o benefício adicional de biorremediação em águas residuais; removem o dióxido de carbono de gases emitidos de combustíveis fósseis de usinas termoeletricas e outras fontes, gerando assim uma maior redução das emissões de gás no efeito estufa; produz co-produtos ou subprodutos de alto valor agregado (biopolímeros, proteínas, polissacarídeos, pigmentos, ração animal, fertilizante e H₂), crescem durante todo o ano com uma produtividade cerca de dez vezes maior que vegetais superiores (HU et al., 2008).

A principal vantagem de se cultivar comercialmente as microalgas é a obtenção de seus produtos metabólicos, que são utilizados na alimentação de organismos marinhos e terrestres, como suplementos alimentares para os seres humanos, ou para seu uso em processos ambientais, como tratamento de águas residuais, fertilização dos solos, biocombustíveis e fitorremediação de resíduos tóxicos (PEREZ-GARCIA et al., 2011).

3.2. BIOTECNOLÓGICA DAS MICROALGAS

3.2.1. COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADES BIOLÓGICAS

A busca por compostos bioativos a partir de microalgas vêm se tornando cada vez mais promissora, acompanhado da introdução crescente de espécies cultivadas a nível comercial, facilitando e viabilizando a obtenção destas moléculas de interesse. A manutenção controlada e a produção de microalgas é um factor essencial para explorá-las como uma fonte economicamente viável de importantes produtos.

Os organismos fotossintetizantes possuem dois tipos de metabólitos: primários e secundários. Os metabólitos primários respondem ao conjunto de processos metabólicos que desempenham uma função essencial, exercendo função ativa nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes. Os compostos envolvidos no metabolismo primário possuem uma distribuição universal. Os metabólitos secundários estão intimamente associados à estratégias de defesa das plantas, sendo principalmente distribuídos em três grupos de acordo com sua rota biossintética: terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O estudo do metabolismo secundário em microalgas foi desenvolvido a partir do isolamento e do reconhecimento de produtos químicos bioativos, através da pesquisa sobre a sua biossintese e o estudo dos mecanismos de controlo fisiológicos envolvidos. Tanto os processos metabólicos primários como os secundários envolvem nucleótido de piridina /flavoproteína/ processos de transferência de elétrons da cadeia de citocromos e a reatividade anidrido dos tioésteres e anidridos fosfóricos, respectivamente. Os compostos formados na fase de produção do metabolismo secundário são geralmente constituídos de diferentes componentes intermediários que são acumulados nas células das microalgas ou no meio de cultura, durante seu período de crescimento e são precursores do metabolismo primário (SKULBERG, 2004) (figura 3).

Os compostos bioativos são geralmente metabólitos secundários, que incluem vários tipos de substâncias que variam a partir de ácidos orgânicos, carboidratos, aminoácidos e péptidos, vitaminas, substâncias de crescimento, antibióticos e enzimas. Os metabólitos apresentam uma vasta gama de atividades biológicas, incluindo atividade anticancerígena, antioxidante, antiviral

de iniciação. Os antioxidantes secundários como o ácido ascórbico e o ácido cítrico, irão atuar por uma variedade de mecanismos incluindo a ligação com íons metálicos, a redução de oxigênio, a conversão de hidroperóxidos a espécies não-radicaais, a absorção de radiação ultravioleta ou a desativação do oxigênio (POKORNY, 2001).

Os compostos fenólicos são encontrados em extratos de microalgas de diferentes grupos taxonômicos (SCHOLZ e LIEBEZEIT, 2012). São importantes no metabolismo das plantas e tem se tornado importante para a saúde dos humanos devido as suas características, particularmente relacionadas às suas propriedades antioxidantes (VENDRAMINI, 2004, CHA et al., 2010) e farmacológicas, como atividades antivirais e antimicrobianas (ABD EL-BAKY et al., 2008).

O crescente número de publicações representam a diversidade de substâncias presentes nas microalgas e suas respectivas atividades biológicas, gerando resultados científicos que permitem o avanço na geração de novos produtos a partir dos compostos bioativos identificados e suas possíveis aplicações.

Muitas empresas estão conscientes das descobertas científicas e da tendência de consumo destes compostos naturais, e buscam novos ingredientes para incorporar aos produtos já existentes e aos que poderão ser desenvolvidos no futuro. Uma tendência que está se destacando é o aumento na procura por parte da população, de produtos funcionais baseados em compostos bioativos ou fitoterápicos (ROCHA FILHO, 1995).

Tabela 1 – Empresas, produtos de origem algal e as atividades biológicas atribuídas (adaptada de PULZ & GROSS, 2004).

Empresa	País	Microalgas	Produto	Atividade biológica
Korea Chlorella Co.	Coreia	<i>Chlorella</i>	Extrato de <i>Chlorella</i>	Nutracêutico
Lifestream	Nova Zelândia	<i>Chlorella</i>	Extrato de <i>Chlorella</i>	Nutracêutico
Solazyme	USA	<i>Botryococcus braunii</i>	Ácido glucurônico	Creme facial com protetor solar
Sun Chlorella	USA	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Extrato de <i>Chlorella</i>	Nutracêutico, Creme facial, Suplemento para animais
Martek Omegatech	USA	<i>Cryptocodium</i>	DHA	Desenvolvimento cerebral

Cyanotech	USA	<i>Haematococcus</i>	Astaxantatina	Tratamento da Síndrome do Tunel Carpo
Mera	USA	<i>Haematococcus</i>	Astaxantatina	Antiinflamatório, tratamento de lesões musculares
Ocean Nutrition	Canadá	<i>Chlorella</i>	Extrato de carboidratos	Melhora da resposta imunológica, antigripal
InnovalG	França	<i>Odoniella</i>	EPA	Antiinflamatório
Panmol/Madaus	Áustria	<i>Spirulina</i>	Vitamina B12	Melhora da resposta imunológica
Nutrinova Celanese	Alemanha	<i>Ukenia</i>	DHA	Tratamento de doenças cerebrais e cardíacas

As microalgas podem ser adicionados aos alimentos ou utilizadas a partir de compostos isolados dos extratos. Quando usados na forma de extratos, os compostos presentes dependem, principalmente, do método de extração e do solvente utilizado (MARIUTTI & BRAGAGNOLO, 2007). Diversos solventes vêm sendo utilizados e comparados para extração de pigmentos e compostos em microalgas (WRIGHT et al., 1997, SILVEIRA et al., 2006, MORAES et al., 2010).

Semelhantemente ao que ocorre em outros organismos, cada classe de microalgas apresenta sua própria combinação de pigmentos e, conseqüentemente, coloração distinta. Os três principais grupos de pigmentos encontrados na biomassa microalgal são as clorofilas, os carotenoides e as ficobilinas (ficobiliproteínas) (ABALDE et al., 1998).

A substância presente no extrato da microalga *Chlorella* de maior importância é β -1,3-glucana, que é um imunostimulador, sequestra radicais livres, além de ser um redutor de lípidos no sangue. No entanto, vários outros efeitos promovendo melhorias na saúde já foram observados (eficácia no tratamento de úlceras gástricas, feridas, e prisão de ventre; ação preventiva contra a aterosclerose e hipercolesterolemia e ação antitumoral (YAMAGUCHI, 1997). Para *Scenedesmus* principais pigmentos porfirínicos são clorofila a e b. Os carotenoides encontrados na espécie *Scenedesmus obliquus* são neoxantina, loroxantina, violaxantina e luteína, porém também há presença de β -caroteno. A maioria dos carotenóides são conhecidos pelo potencial de atividade antioxidante e terapêutico. Os compostos antioxidantes podem neutralizar radicais

livres em células e tecidos, os protegendo assim de danos oxidativos (CHU et al., 2011)

Os compostos ou extratos algais, dependendo das condições de cultivo e processamento, podem exibir diferentes concentrações de moléculas bioativas e com diferentes atividades biológicas. Por serem um grupo extremamente diverso, esta diversidade se reflete também na sua composição bioquímica. Os fatores biológicos e os químicos influenciam no crescimento das microalgas, sendo assim, a composição pode ser alterada significativamente pelas condições de cultivo que podem interferir no metabolismo das células e conseqüentemente na síntese dos compostos de interesse. Nesse sentido, manipulação dos cultivos de microalgas têm sido realizados visando à produção de biomassa tanto para uso na elaboração de alimentos quanto para a obtenção de compostos naturais com alto valor no mercado mundial. (LOURENÇO, 2006).

Em *Scenedesmus* sp., por exemplo, a atividade da enzima superóxido desmutase que converte superóxido a peróxido de hidrogênio, aumenta a medida que se eleva as concentrações de metal no meio onde estão presentes (WILTSHIRE et al., 2000). O aumento da síntese de carotenóides em *Scenedesmus* sp. tem sido demonstrado como uma resposta ao estresse oxidativo e, portanto, pode ser controlado (aumento o poder de síntese) utilizando diferentes condições de cultivo (CHU et al., 2011)

Além de sintetizarem uma gama de compostos no interior das células, as algas produzem uma grande variedade de metabólitos quimicamente ativos no meio onde vivem, potencialmente como uma forma de se protegerem contra a sedimentação por outros organismos. Estes metabólitos ativos são conhecidos como compostos biogênicos, representado pelos compostos halogenados, álcoois, aldeídos, terpenos que são produzidos por várias espécies de macro e microalgas e possuem propriedades como antibacterianas e antifúngicas que são eficazes na prevenção da incrustação biológica e além disso possuem aplicações terapêuticas. Utilização de algas, como as Clorofíceas têm recebido um crescente interesse pois seus compostos podem ser extraídos e utilizados como para uma gama de produtos farmacêuticos. Compostos biogênicos que também possuem antibacteriana interessante, propriedades anti-incrustação e anti-algal foram isolados dos membros das microalgas Chlorophyceae (BHADURY & WRIGHT, 2004).

Outro exemplo de composto extracelular é encontrada quando ocorre em ambiente natural a morte de algas concentrações de diatomáceas (crisófi-

tas). O depósito de sua carapaça rica em carbonato de cálcio contribui para a formação de um sedimento denominado “terra de diatomáceas”. O acúmulo deste composto pode ser aproveitado na fabricação de filtros, produtos abrasivos, cremes dentais, lixas para polimentos finos ou na indústria de cosméticos. (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004).

3.2.2. APLICAÇÃO BIOTECNOLOGIA GERAL

Biotechnologia de microorganismos tem sido desenvolvida para diferentes aplicações comerciais. Algumas espécies de microalgas destacam-se por apresentar características de interesse para a indústria. Dentre as diversas aplicações, destaca-se a utilização na indústria farmacêutica, pois algumas espécies de microalgas produzem compostos bioativos como antioxidantes e antibióticos. Como são organismos fotossintéticos, as microalgas contêm clorofila e podem ser usadas como alimentos e cosméticos. Também são usados como suplementos nutricionais para o consumo humano, devido aos elevados teores de proteínas, polissacarídeos e os conteúdos de vitaminas. Além disso, estes organismos possuem altos níveis de lipídios que podem ser extraídos e convertidos em biocombustíveis. (HARUN et al., 2010) (Figura 4).

Microorganismos fotossintéticos vivendo em condições naturais ou de cultivo produzem e liberam uma ampla variedade de substâncias orgânicas no ambiente que vivem, podendo produzir metabólitos secundários, entre eles um grande número e variedade de substâncias bioativas, com uma variada gama de estruturas biológicas e químicas (BOROWITZKA, 1995).

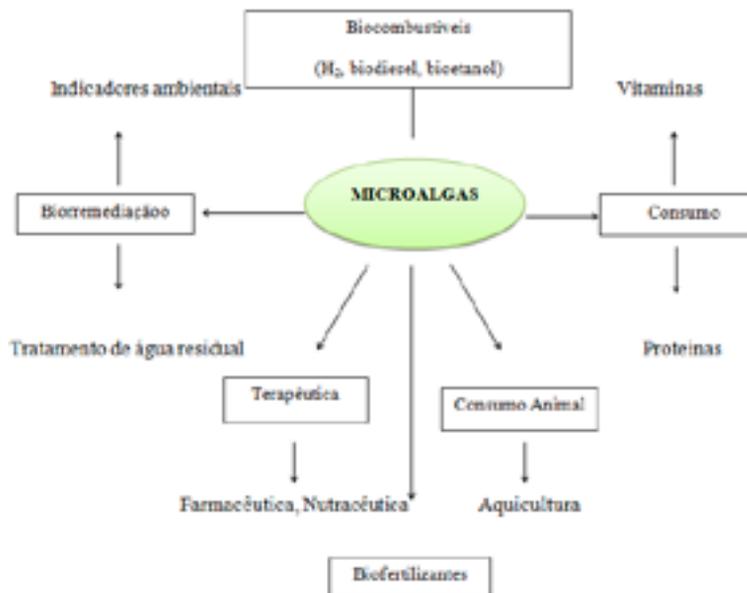


Figura 4: Aplicações biotecnológicas das microalgas

3.2.3. APLICAÇÃO FARMACÊUTICA E COSMÉTICOS

O advento da biologia molecular tem levado a uma melhor compreensão da biossíntese e fisiológicas funções das moléculas bioativas em microalgas. Esforços também têm sido investidos para o desenvolvimento de microalgas transgênicas como ‘fábricas celulares verdes’ para produzir novos fármacos utilizando técnicas de transformação genética (CHU, 2012).

Apenas na década de 70 ocorreram grandes progressos, com a utilização de culturas para a produção de pigmentos, suplementos alimentares e vitaminas para a indústria farmacêutica (SOEDER, 1986). Microalgas são uma fonte potencial de suplementos alimentares diversos e biomateriais utilizados na indústria farmacêutica. Algumas destas omega-3 são ácidos graxos, ácido eicosapentanóico (EPA), decosaheptaenoico ácido (DHA) e clorofila. A clorofila é um outro produto farmacêuticamente importante obtida a partir da microalga. Acredita-se que quase todas as algas cultivadas sob condição ideal contém em torno de 4% do peso seco das células contém clorofila. *Chlorella*

foi relatado que têm uma quantidade elevada de clorofila entre várias espécies de microalgas. A atividade quelante da clorofila tem mostrado benefícios farmacêuticos especialmente no tratamento de úlceras no fígado. Clorofila foi também investigado como fonte de pigmentos em cosméticos. (SINGH & GU, 2010).

Na aplicação na indústria de cosméticos, extratos de microalgas podem ser principalmente encontrados em produtos de cuidados para a pele e rosto (cremes antienvhecimento, produto regenerador ou refrescante). Outras aplicações cosméticas a partir de microalgas estão representados em produtos para cabelo e proteção solar. Um exemplo de produto comercialmente disponível é um extrato de *Chlorella vulgaris* que estimula a síntese de colágeno na pele, a regeneração de tecidos, contribuindo para a redução do envelhecimento. (*Dermochlorella*, Codif, St. Malo, França) (SPOLOARE et al., 2006).

3.2.4. APLICAÇÃO ALIMENTÍCIA

A biomassa produzida a partir de microalgas pode ser utilizada em diversas aplicações. Por apresentar valores nutritivos, a biomassa pode constituir um alimento ou suplemento alimentar para animais. Também pode ser comercializada como complementos para a alimentação humana, geralmente sob a forma de cápsulas (MATA et al., 2010).

Além do uso como alimento para animais aquáticos e terrestres, o valor nutricional reconhecido da biomassa de algas tem promovido a sua utilização como um elevado suplemento de proteína na nutrição humana e como nutracêuticos (CAMPOS et al, 2007).

Desde o início da produção comercial de biomassa de microalgas, no início da década de 1950, o objetivo principal do desenvolvimento deste produto tem sido focado no mercado nutracêutico e de alimentos funcionais. Há uma tendência crescente deste mercado, considerando a prosperidade na econômica em todo o mundo, bem como o interesse cada vez maior no mundo ocidental por alimentos naturais. A variedade de comprimidos e pó produzidos a partir das microalgas *Chlorella*, *Spirulina* (ou *Arthrospira*) e *Dunaliella* está sendo diversificado com a inserção de outras espécies em potencial. Originalmente utilizada para produzir astaxantina para pigmentação de peixes e camarão, foi descoberto que este pigmento poderia ser excelente para prevenir o envelhecimento por possuir potencial atividade antioxidante, então a

principal produção desta espécie está focada na fabricação de nutracêuticos (RICHMOND et al., 2004).

Atividades de imunopotenciação foram encontradas em células inteiras, como bactérias, fungos, algas, líquens e plantas superiores. Microalgas com suas vantagens adicionais como uma longa história de utilização alimentar, o cultivo fácil, e alto teor nutritivo torná-lo uma fonte valiosa para estudos imunomoduladoras. Os cientistas estão cada vez mais voltando sua atenção para as algas como fábricas de ingredientes, particularmente os componentes nutricionais. O DHA ácido omega-3 fatty extraído algas marinhas já está no mercado, enquanto várias empresas estão oferecendo o carotenoide e astaxantina (AX) a partir de outras fontes de algas. Spirulina, Chlorella, e Aphanizomenon (RAJA & HEMAISWARYA, 2010).

Segundo Richmond (2004) microalgas como Spirulina, Chlorella, Dunaliella, assim como Scenedesmus, quando corretamente processada têm um sabor atraente e pode ser assim incorporados em muitos tipos de alimentos humanos, expandindo a demanda destas microalgas no mercado. Atualmente, são comercializadas como alimento natural ou suplemento alimentar e são encontradas formulações em pó, tabletes, cápsulas ou extratos (DERNER et al., 2006).

Chlorella contém em sua composição proteínas, carotenoides, alguns imunostimuladores, polissacarídeos, vitaminas e minerais, sendo uma das microalgas mais utilizadas na indústria de alimentos funcionais (MASOJÍ-DEK et al., 2010). Segundo Wikfors e Ohno (2001) o lucro da venda desta biomassa para o mercado nutracêutico no Japão é de 500.000 dólares por ano. Ainda hoje, os nativos do Chade, em determinadas épocas do ano, dependem quase que exclusivamente da coleta desta microalga para sua alimentação (JOURDAN, 1996).

3.2.5. BIOCOMBUSTÍVEIS

A produção de biocombustíveis a partir de microalgas é uma das aplicações que ainda não se encontra muito desenvolvida devido a diversos fatores econômicos e técnicos. Apresenta, contudo, elevadas potencialidades, quer a nível ambiental, quer a nível econômico. As vantagens ambientais estão relacionadas com a substituição de fontes não renováveis por fontes renováveis de produção de combustíveis ou eletricidade. As vantagens econômicas estão relacionadas com o crescimento de uma nova indústria de produção de ener-

gia baseada na biorrefinação de substâncias extraídas da biomassa produzida. Há uma grande diversidade de possíveis aplicações bioenergéticas geradas a partir de biomassa de microalgas. Estes incluem diversos biocombustíveis, como etanol, hidrogênio, bióleo, a geração de energia elétrica, e a produção de gás de síntese (mistura de hidrogênio e dióxido de carbono) e o carvão. (ROSA, 2011)

Outras frações de algas contêm produtos químicos valiosos ou compostos moleculares que podem ser utilizados na produção de plásticos verdes, detergentes, produtos de limpeza verdes, e polímeros que são biodegradáveis, não-tóxico, e pode ser vendido a um preço compatível aos produtos derivados do petróleo. A utilização dos co-produtos de biomassa algal é fundamental para o sucesso dos biocombustíveis de algas. Alguns analistas de mercado consideram que, apesar de todos os fatores positivos, como o potencial de crescimento elevado, a não competição com culturas alimentícias e sua utilização para o seqüestro de CO₂, o sucesso comercial da aplicação de biocombustíveis algal depende do desenvolvimento de co-produtos de alto valor (ex.: polímeros renováveis ou pigmentos). Neste sentido, vários avanços e inovações tecnológicas vêm sendo desenvolvidas na biologia sintética, engenharia metabólica e genômica, desenvolvimento de sistemas de circuito fechado de reatores biológicos e tanques abertos de cultivo; sistemas de extração e coleta de microalgas (SINGH & GU, 2011)

Atualmente, a maioria dos sistemas de produção de algas podem gerar de 9.450 a 18.900 litros de óleo por hectare em tanques de cultivo abertos e microalgas com um teor de 30% de óleo (SINGH & GU, 2011). No entanto, segundo JIANG et al. (2012) o equilíbrio entre taxas máximas de crescimento e de produção de óleo e a mínima utilização de nutrientes será a meta final da produção de biocombustível a partir de algas no futuro. Este saldo será necessário para garantir que esta nova indústria seja tanto rentável como ambientalmente responsável.

3.2.6. BIORREMEDIAÇÃO

Por serem produtoras primárias dos ecossistemas aquáticos, as microalgas dependem das condições físicas e dos nutrientes presentes no sistema, demonstrando sensibilidade a possíveis mudanças nestes ambientes. Desta forma, estes microorganismos fotossintéticos vêm sendo utilizadas como excelentes bioindicadores biológicas da qualidade de água (TREVINO, 2008),

além de sua eficiência na remoção de nutrientes em sistemas de tratamento de água. Sua utilização no tratamento de águas residuais e na biorremediação teve início aproximadamente nos anos 80 (SPÍNOLA, 2010).

O uso das algas na recuperação de efluentes contendo espécies metálicas apresenta vantagens, como o baixo custo da operação e a elevada eficiência na remoção dos contaminantes de efluentes muito diluídos (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004). A remoção biológica de nutrientes consiste, como o nome indica, na remoção de nutrientes dos efluentes por via biológica. Estes microrganismos acumulam o nitrogênio e fósforo e os transformam em substâncias de reservas que podem ser convertidas em produtos com valor comercial. A grande vantagem está no fato das microalgas possuírem a capacidade de assimilar os nutrientes solúveis em quantidades maiores do que as necessárias para o seu crescimento imediato. Juntamente com a sua capacidade de absorverem contaminantes, como os metais pesados, as microalgas são microrganismos com um potencial elevado para a depuração de águas residuais (DINIS et al., 2004).

Segundo Shi (2009) as microalgas possuem a capacidade de assimilar uma quantidade significativa de nutrientes porque requerem altas concentrações de nitrogênio e fósforo para realizar a síntese de fosfolipídeos, ácidos nucleicos e proteínas, que podem representar cerca de 45-60% do seu peso seco. Com o intuito de avaliar a eficiência da remoção de nitrogênio e fósforo de águas residuais, este autor encontrou resultados que indicam uma remoção superior a 90% de nitratos e fósforo, das águas residuais tratadas, pelas microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus*.

3.2.7. AVANÇOS NA GENÉTICA MOLECULAR DE MICROALGA

Microalgas têm sido amplamente cultivadas e comercializadas, sendo seu potencial como fonte de compostos de alto valor agregado bem conhecida. Mas, em contraste com o grande número de bactérias, levedura e plantas superiores geneticamente modificadas, apenas algumas espécies de microalgas foram geneticamente modificadas com eficiência. Dificuldades iniciais na expressão de genes foram progressivamente superadas, e poderosas ferramentas moleculares para sua genética engenharia já estão disponíveis atualmente. Porém, ainda há um longo caminho para transformar novas espécies de microalgas, especialmente aqueles que possuem um valor comercial, prin-

principalmente visando o aumento da produtividade e da síntese de novos ou compostos tradicionais (LEÓN, et al., 2007).

Na última década tem sido alcançado progressos significativos na genômica das microalgas, principalmente com a criação de base de dados de marcadores sequenciais e a sequência do genoma de algumas espécies. Historicamente a Clorofícea *Chlamydomonas reinhardtii* tem sido o foco da investigação genética e molecular sendo a maioria das ferramentas para expressão de genes específicas para esta espécie, porém outras ferramentas estão sendo desenvolvidas para espécies de importância econômica. Vários projetos do sequenciamento genômico já foram concluídos e algumas espécies estão em andamento, entre elas a *C. vulgaris* (GREENWELL et al, 2010)

As limitações para a transformação genética de microalgas que impedem sua manipulação são aspectos importantes. Ferramentas moleculares e recursos genéticos são cada vez mais desenvolvidos, o que vem permitindo o estudo dos processos metabólicos e das microalgas e sua regulação, possibilitando um maior aproveitamento biotecnológico. A sequência completa ou quase completa do genoma de algumas espécies vem permitindo o estudo simultâneo da expressão de milhares de genes em respostas a mudanças ambientais e nutricionais (SPINOLA, 2010)

A biotecnologia microalgal ganhou importância considerável nas últimas décadas e as suas aplicações variam da simples produção de biomassa para alimentação, como já mencionado, a valiosos produtos para aplicações farmacêuticas. Para a maioria destas aplicações, o mercado ainda está em desenvolvimento e seu uso se estendendo a novas áreas. Considerando a enorme biodiversidade das microalgas e recentes desenvolvimentos em engenharia genética, este grupo de organismos representa uma das fontes mais promissoras para novos produtos. Com o desenvolvimento de técnicas sofisticadas de culturas, a biotecnologia microalgal já responde as altas demandas de alimento e indústrias farmacêuticas (PULZ; GROSS, 2004). Avanços na genética molecular de microalgas também terão um profundo impacto sobre o desenvolvimento de processos e tecnologias. (DEL CAMPO, et al 2007)

Além dos esforços direcionados à seleção de espécies que acumulam grandes quantidades de compostos de interesse industrial e suas respectivas atividades biológicas, o melhoramento genético de cepas de algas também é um desafio atual. O uso de microalgas transgênicas em aplicações comerciais é uma promessa significativa. Espécies modificadas podem potencializar a produção de compostos já conhecidos de algas ou recém-descobertos e tam-

bém para expressar genes específicos que não possam ser expressos em levedura. No entanto, por apresentar um alto potencial, a descoberta de fármacos é a maior promessa da biotecnologia de microalgas, embora a quantidade de espécies analisadas seja ainda reduzida (TRAMPER et al., 2003).

3.3. ESPÉCIES DE MICROALGAS CULTIVÁVEIS

A utilização das algas na aquicultura está diretamente relacionada à sua fundamental importância como fonte de alimento natural para os animais aquáticos. As principais aplicações de microalgas na aquicultura estão associadas com a nutrição, controle da qualidade da água (podendo junto com as bactérias, controlar o balanço entre o oxigênio e o dióxido de carbono nos cultivos), como aditivo alimentar (ex.: coloração característica no salmão e truta) e outras atividades biológicas (SPOLOARE et al., 2006).

Atualmente, mais de 40 espécies de microalgas já foram testadas como fonte de alimento para aquicultura, mas nem todas têm condições de suprir as exigências nutricionais para o desenvolvimento de animais cultivado para o consumo humano. Alguns critérios nutricionais para a seleção da microalga e sua utilização na aquicultura são: não serem tóxicas, terem o tamanho apropriado para serem ingeridas, apresentar digestibilidade da parede celular e possuírem os componentes bioquímicos essenciais (BROWN et al., 1997).

Dependendo do animal e do seu estágio de vida, as microalgas são consumidas diretamente, por várias espécies de herbívoros, que dependem da dieta algal durante todas as fases da vida, ou através do consumo indireto, que ocorre via cadeia alimentar. Na aquicultura são bastante utilizadas para enriquecimento de espécies de zooplâncton na nutrição de peixes. Apesar dos melhores resultados serem apresentados com a utilização das algas vivas na alimentação de organismos aquáticos, também podem ser ofertadas secas, congeladas ou inseridas nas dietas (SEIXAS et al., 2009).

Segundo Coutteau e Sorgeloos (1992), a maioria dos cultivos comerciais de moluscos bivalves utilizam sistema intensivo de produção de microalga em ambientes fechados e controlados, o que permite um maior controle das condições de cultivos e de crescimento. No entanto, estas técnicas requerem espaço, energia, mão de obra especializada, o que as tornam mais dispendiosas que o cultivo em ambientes externos. O custo estimado da produção de alga em laboratórios de bivalves varia de 50 a 400 dólares por kg de biomassa seca.

Os altos custos de produção são um dos maiores obstáculos para a viabilidade de muitos laboratórios de cultivo algal. Apesar de esforços desenvolvidos ao longo das últimas décadas, com relação ao custo-benefício na utilização de dietas artificiais para substituir microalgas, a produção de microalgas ainda continua a ser um elemento essencial no desempenho dos organismos alimentados pelas algas. A busca por dietas alternativas certamente continuará, mas pesquisas direcionadas com a redução nos custos de produção de microalgas também provavelmente diminuirá, por isso estima-se que as microalgas não serão substituídos na sua totalidade, pelo menos em médio prazo. Uma ampla seleção de espécies de microalgas encontra-se disponível para dar suporte às espécies que dependem destas na aquicultura. No entanto, aplicações específicas em subsetores industriais demandam novas espécies com a qualidade nutricional ou características de crescimento melhorado, o que também contribuem para um aumento da eficiência e produtividade nos resultados dos cultivos de animais aquáticos.

Na pesquisa básica, por sua simplicidade estrutural e complexidade funcional, as microalgas tornaram-se veículos para importantes descobertas e experimentos. Como resultado, o cultivo de algas tem sido utilizado como uma ferramenta importante na investigação moderna, utilizado por investigadores de diversas áreas de pesquisas como taxonomia, morfologia, fisiologia, bioquímica, engenharia genética, cultura de tecidos, a produção de alimentos, agricultura, tratamentos de resíduos e medicina. (BECKER, 1993)

Para desenvolver o cultivo de uma espécie em particular, há a possibilidade de isolar a microalga do ambiente natural ou adquirir através de uma coleção de algas. Milhares de microalgas têm sido isoladas de habitats naturais e são mantidos em várias coleções de cultura em todo o mundo. Milhares de espécies e variedades de táxons de algas são atualmente mantidos isolados em culturas de todo o mundo, como as coleções de microalga no Reino Unido, Portugal, Coréia, Maine-USA, Texas-EUA, com (CCAP, FCTUC, KMMCC, NCMA e UTEX, 2012), mantendo cerca de 3000, 4000, 1000, 2718 e 2800 cepas, respectivamente. No entanto, até a atualidade apenas alguns cepas de microalgas, a maioria de origem aquática, têm sido cultivado em sistemas de produção em larga escala de centenas a milhares de litros.

Segundo um levantamento realizado por Lourenço (2006), há cerca de 43 instituições brasileiras que mantêm coleções de cultivo de microalgas. A maioria das coleções estão localizadas em Universidades e Institutos de pesquisa e destina-se à utilização em investigações e também nas empresas de

aquicultura distribuídas em vários estados do país, como na alimentação no cultivo de organismos aquáticos (camarão, ostra, peixe).

Ao determinar a espécie que se deseja cultivar e o objetivo da aplicação desta, alguns parâmetros são importantes serem analisados para a viabilidade do cultivo e da obtenção da biomassa: as facilidades que permita o seu cultivo em larga escala; adaptação ao sistema de cultivo (condições artificiais de crescimento); condições que permitam a síntese do composto de interesse; elevada taxa de crescimento; baixo custo de produção, entre outros. Comumente, o ciclo de vida das microalgas é estabelecido em poucas horas, o que permite que a população seja duplicada em um curto espaço de tempo. Esta alta produtividade é um dos pontos principais para determinar a viabilidade do cultivo, assim como a obtenção da biomassa algal e dos produtos de interesse (DANTAS, 2012).

As populações naturais de fitoplâncton podem ser limitadas pelo fornecimento de nutrientes, luz e carbono, provocando baixa densidade celular e portanto uma biomassa com déficit nutritivo. Os cultivos de microalgas representam sistemas artificiais e são dispostos de estrutura e condições (aporte macro e micronutrientes, iluminação e troca de gás) adequados para a espécie selecionada, podendo ser manipulados a fim de potencializar a síntese de compostos de interesse. Além disso, como as microalgas crescem em suspensão no meio, é necessário misturar a cultura, permitindo a exposição das células à luz, troca de gases e nutrientes de forma homogênea.

A seleção dos nutrientes, formando o meio de cultura é crucial na produção em massa de microalgas. Os nutrientes utilizados devem estar associados ao custo de produção, quando se trata de m cultivo em escala comercial, e a necessidade da espécie. Embora critérios objetivos sejam utilizados para determinar a importância relativa de cada elemento para nutrição algácea, não há um número universal e exato de elementos químicos essenciais para cada espécie. Existem os elementos essenciais (carbono, nitrogênio, hidrogênio, oxigênio, fósforo, magnésio, enxofre, potássio, cálcio, cobre, zinco e molibdênio) e dependendo da quantidade de cada nutriente exigida para os processos metabólicos os elementos podem ser divididos em micronutrientes ou macronutrientes. Os macronutrientes são essenciais por serem constituintes estruturais abundantes de biomoléculas, de membranas e do meio intracelular, por participarem de processos de troca de energia, por regularem atividades metabólicas, dentre diversas outras funções relevantes (carbono-componente mais importante para síntese de proteína, carboidratos, ácidos

nucléicos, vitaminas, lipídeos, etc.; nitrogênio- componente fundamental dos pigmentos; P- transferir energia (ATP) e constituir moléculas estruturais)O principal papel dos micronutrientes é participar da estrutura e da atividade de diversas enzimas, que por sua vez são envolvidas em diferentes vias metabólicas das algas, e organelas celulares (como os ribossomos) (LOURENÇO, 2006).

As microalgas possuem uma grande variedade de estratégias fisiológicos, bioquímicos e moleculares para lidar com o stress, sendo capazes de sintetizar uma variedade de produtos químicos bioativos (CHU, 2012). Sobre condições ambientais extremas ou estresse induzido durante o cultivo, as microalgas podem potencializar a síntese destes compostos. A manipulação de nitrogênio no meio de cultura, por exemplo, exerce uma forte influência no metabolismo de lipídeos e ácidos graxos em espécies de microalgas (TAKAGI et al., 2006).O aumento da formação de carotenóides em algas têm sido relatado como uma resposta ao estresse oxidativo e, portanto, pode ser uma condição utilizada para a regulação da síntese deste composto em diferentes condições de cultivo (CHU et al., 2011). Segundo Wilson e Huner (2000), a espécie *Chlorella vulgaris* acumula pigmentos como clorofila a e b, β -caroteno e xantofilas porém sob condições de estresse podem armazenar outras substâncias de interesse. Algas do gênero *Haematococcus* se diferenciam rapidamente e acumulam astaxantina em glóbulos de gordura (geralmente ácido oléico) fora do cloroplasto, quando se deparam com condições de estresse (ex.: deficiência de nitrogênio, alta intensidade de luz, adição de sal). Este processo de carotenogênese induz grandes mudanças na composição celular das microalgas, geralmente diminuindo os teores de proteína e aumentando os de lípidos (Batista et al., 2010)

3.3.1. PRODUÇÃO MUNDIAL

A produção comercial de microalgas mundial teve início na década de 60 com espécies de *Chlorella* e *Spirulina*, como suplementos dietéticos, *Dunaliella salina* para obtenção de β -caroteno, *Haematococcus pluvialis* para produção de astaxantina e diversas outras espécies para aplicação na aquicultura. (BENEMAN, 1990).

Em 1980, havia cerca de 46 grandes fábricas na Ásia produzindo mais de 1000 Kg por mês de microalgas (principalmente *Chlorella*). Atualmente, a maior parte da biomassa de microalga comercializada no mercado é representada pela *Chlorella* e *Arthrospira* com uma produção anual de 3.000 t e

4.000 t, respectivamente. (MASOJÍDEK et al., 2010). Chlorella é produzido por mais de 70 empresas. Taiwan Chlorella Manufacturing (Taipei, Taiwan) é a empresa de maior produção, com 400 t de biomassa seca produzida por ano. Uma produção significativa também é alcançada em Klötze, Alemanha (130-150 t de biomassa seca por ano), utilizando um sistema de potobiorreator tubular. As vendas anuais mundiais de Chlorella excedem os 38 bilhões de dólares (SPOLOARE, 2006).

3.3.2. PRODUÇÃO NO BRASIL

No Brasil, foi o sucesso no cultivo de microalgas para alimentação de animais aquáticos que inseriu o país no cenário internacional envolvendo esta temática (LOURENÇO, 2006). Atualmente a produção em escala comercial no país está relacionada com a alimentação (direta na larvicultura de camarões e moluscos marinhos ou indireta no enriquecimento nutricional de rotíferos e copépodos utilizados como alimento nos cultivos de peixes) de organismos aquáticos de importância econômica na Aquicultura Brasileira. Os centros de cultivo de microalgas são vinculados às empresas que estão localizadas principalmente na Região Nordeste, Sudeste e Sul, onde se concentram os maiores centros de cultivo.

Microalgas produzidas industrialmente têm sido comercializadas há vários anos, principalmente nos países industrializados, onde os consumidores estão mais acessíveis ao conhecimento da qualidade das propriedades destas, o que os permite maior acessibilidade e confiança ao produto algal. Contudo, a introdução de microalgas e seus produtos nos países em desenvolvimento apresenta alguns entraves, dentre eles, fatores conservadores étnicos, incluindo aspectos religiosos e sócio-econômicos. A resistência em usar algas ou produtos de algas entre os consumidores é também causada por dificuldades relativas à ineficiência na segurança de tais produtos na saúde pública, ausência de regulamentos legislativos oficiais, diretrizes e normas sobre a produção e composição de produtos à base de algas (RICHMOND, 2004). Diante das questões citadas acima, atualmente não há empresas brasileiras comercializando biomassa de microalga ou algum produto proveniente desta. A burocracia dos órgãos deliberadores e a lentidão dos processos legais, assim como a falta de conhecimento sobre as microalgas (espécie, produção e produtos) impedem a permissão para comercialização no país (comunicação pessoal). Apesar destes entraves, algumas empresas vêm desenvolvendo alguns processos.

A empresa Claeff Engenharia e Produtos Químicos Ltda., localizada em Pernambuco, possui uma unidade de produção instalada especialmente para o cultivo e extração de microalgas (*Chlorella*, *Spirulina*, *Scenedesmus* e *Haematococcus*) adaptadas às condições da região Nordeste visando a produção de insumos úteis às indústrias de alimentos e cosméticos. Cápsulas de *Chlorella* e *Spirulina* e *Haematococcus* (*Astaxantina*), assim como extratos glicólicos destas espécies, são produtos já desenvolvidos por esta empresa (produtos com patente depositada) (CLAEFF, 2012). A Algae Biotecnologia tem foco especial na produção de biodiesel e potencial de sequestro de carbono pelas microalgas, incluindo os projetos dentro do âmbito do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL). Além disto, há especial preocupação com a minimização de uso de água e valorização de resíduos agrícolas (ALGAE, 2012). A empresa americana Solazyme, que desenvolve produtos biotecnológicos a partir de microalgas (biocombustíveis, químicos, alimentos funcionais e cosméticos) recentemente vem investindo no Brasil na produção de biodiesel de alga em parceria com empresas nacionais (SOLAZYME, 2012).

3.4. SISTEMAS DE CULTIVO DAS MICROALGAS

3.4.1. TIPOS DE CULTIVO

Qualquer que seja a aplicação da biomassa produzida é muito importante que o processo de produção apresente todas as condições para que as microalgas cresçam e se multipliquem a uma maior velocidade de crescimento possível. Vários os parâmetros devem ser considerados na determinação da eficiência de crescimento, especialmente a produção de biomassa por unidade de volume, a produção por unidade de volume e tempo (produtividade), e talvez o mais importante, a produção de biomassa por unidade de área e tempo (produtividade em termos de área). A produtividade pode variar significativamente de acordo com a espécie de microalga utilizada e o tipo de cultivo envolvido no processo. Tal como acontece com qualquer indústria, o cultivo de microalgas deve apresentar custos o mais baixos possível, tanto de capital quanto de operação, para viabilizar o processo do ponto de vista econômico (ROSA, 2011)

Existem basicamente quatro tipos de técnicas de cultivo de microalgas: fotoautotrófico, heterotrófico, mixotrófico e fotoheterotrófico, sendo o primeiro o mais comumente utilizado. Com relação aos sistemas de cultivo, muitos modelos têm sido projetados e construídos para o cultivo de microalgas usando luz natural ou artificial. Pesquisadores e empresários produtores de microalgas desenvolveram várias tecnologias de cultivo que são atualmente aplicadas à produção de biomassa algal: tanques abertos (BOROWITZKA 1999, SCHENK et al, 2008, BRENNAN & OWENDE, 2010, ZENG et al., 2011, HUO et al., 2012), fotobiorreatores fechados (PBRs) (HU et al., 1996, AMARO et al., 2011, JIANG, et al., 2013) e reatores de fermentação (RAWAT et al., 2013)

Para se estabelecer o cultivo de microalgas, as populações devem ser mantidas vivas em condições ambientais favoráveis a fim de se obter um aproveitamento econômico da biomassa final. Inicialmente as microalgas são mantidas em pequenos tubos de vidro ou placas e em ambiente livres de contaminação por outros microorganismos, o que influencia na qualidade do cultivo posteriormente. A medida que ocorre a multiplicação das células, estas são transferidas gradativamente para volumes maiores, dispostos geralmente em estruturas de bolsa plásticas, tanques de terra, alvenaria ou fibra de vidro, quando o cultivo é realizada em sistema aberto (Figura 5), ou em fotobiorreatores, quando o cultivo é realizado sistema fechado (Figura 6). Este último atinge altas produtividades e possibilita um maior controle dos parâmetros sobre o cultivo (principalmente com relação à contaminação), porém possui um custo mais elevado, o que muitas vezes inviabiliza a produção.

Segundo Spoloare et al (2006) sistemas de produção de algas precisam ser aperfeiçoados para torna-los mais competitivos e economicamente mais viáveis. O desenvolvimento da biotecnologia microalgal tem sido atenuado pelo limitado desempenho do crescimento de algal em fotobiorreatores industriais.



Figura 6: Produção de microalgas em fotobiorreatores.

Fonte: Dantas, 2012



Figura 5: Produção em tanques abertos de cultivo de microalgas no Haváí.

Fonte: Cyanotech, 2012

Dentre os sistemas abertos, a utilização de tanques rasos abertos vem sendo demonstrado ser a melhor escolha. Cada unidade de cultivo pode ter centenas a milhares de metros quadrados. Alguns inconvenientes deste tipo de cultivo estão na possibilidade de contaminação por outros organismos e/ou por outras espécies de microalgas. Desenvolvidos mais recentemente e tecnologicamente mais avançados, os sistemas fechados oferecem as melhores condições para a produção de praticamente todas as espécies de microalgas, protegendo a cultura da invasão de organismos contaminantes e permitindo o controle das condições do cultivo. Estes fotobiorreatores são planos ou tubulares e podem adotar uma variedade de modelos e modos de operação. Eles oferecem maior produtividade e melhor qualidade da biomassa gerada (ou produto), embora apresentem um maior custo de construção e operação do que os sistemas abertos (DEL CAMPO et al, 2007).

Segundo Singh e Gu (2011), com base nos vários relatórios disponíveis, para a produção óleos e biodiesel de algas atualmente os custos estimados variam entre US \$ 9 e US \$ 25 por galão (3,78 Litros) em algas cultivadas em tanques , e \$ 15 - \$ 40 em fotobiorreatores (PBRs).

A microalga *Chlorella* se desenvolve autotroficamente em meio orgânico, assim como em condições mixotróficas e heterotróficas (por exemplo, com o acréscimo de ácido acético e glicose). Atualmente, a produção autotrófica de *Chlorella* é realizada em tanques abertos, fotobiorreatores tubulares semi fechados, ou cascatas inclinadas. *Chlorella* é a alga eucariótica mais cultivada sendo frequentemente utilizada como suplemento alimentar e alimento saudável, assim como na indústria de cosmético e farmacêutica. Microalgas

pertencem aos organismos fotossintéticos de mais rápido crescimento, visto que o tempo de duplicação de suas células pode ser de poucas a várias horas (MASOJÍDEK et al., 2010).

A seleção do tipo de cultivo utilizado para a produção das microalgas é um das peças fundamentais na viabilidade da obtenção de bioprodutos a partir destas. Muitos esforços vêm sendo realizados no intuito de atingir o cultivo em larga escala com alta produtividade e baixo custo benefício. Diferentes estruturas foram desenvolvidos para o crescimento e manipulação de microalgas em grande escala (BOROWITZKA 1999; GUDIN & CHAUMONT, 1980; WEISSMAN et al., 1988; MOLINA-GRIMA et al., 1999; PULZ 2001; RICHMOND 2004; TREDICI, 2004). A combinação dos fotobiorreatores e tanques abertos vêm sendo indicada como uma eficiente alternativa para maiores produtividades e custos relativamente acessíveis na produção das microalgas (DANTAS, 2012)

3.4.2. OBTENÇÃO DE BIOMASSA

Após a seleção do sistema de cultivo a ser utilizado, um grande entrave na viabilidade da utilização das microalgas na biotecnologia ainda está na separação das células algais do meio de cultura. Este fato está relacionado ao tamanho bastante reduzido das microalgas, que apresentam cerca de 3 a 30µm (MOLINA-GRIMA, 2004) Estes organismos possuem um tamanho bastante reduzido podendo ter apenas alguns micrômetros. Quando comparadas aos musgos (menor vegetal do mundo), por exemplo, alguns representantes podem chegar a ser até 10.000 vezes menores. Assim, a separação destas pequenas células do meio onde estão presentes é um processo complexo e dispendioso, havendo a necessidade de sua otimização. Este processo pode envolver uma ou mais etapa, como a utilização de compostos químicos para floculação, centrifugação e filtração, por exemplo. Portanto, este fato torna a obtenção destas um dos processos mais dificultoso, tornando objeto de diversas investigações (HEASMAN et al, 2000, MOLINA-GRIMA et al., 2004, HARITH et al., 2009, VANDAMME et al., 2011, SIRIN et al., 2012).

Segundo Campo et al. (2007), pesquisas relacionadas a esta área de pesquisa têm demonstrado a necessidade de um método de coleta específico para cada espécie de microalga, visando a partir disto obter um produto de alta qualidade aliado ao baixo custo. Apesar do processamento da biomassa ser específico, os métodos mais comuns são a secagem por pulverização, secagem por tambor, liofilização e secagem ao sol. Entre eles, a secagem por pul-

verização é o método selecionado para os produtos de alto valor, como carotenóides. Quando é necessária a ruptura celular, pode ser utilizado métodos químicos (lise alcalina, solventes) ou mecânicos (Homogeneizadores, ultrassom). Desta forma, a seleção do método de obtenção das microalgas dependerá da microalga e do produto a ser obtido.

Segundo Singh & Gu (2010) os componentes principais da matéria-prima obtida das microalgas são proteínas, hidratos de carbono, lípidos, e outros componentes valiosos, como por exemplo pigmentos, antioxidantes, ácidos graxos, vitaminas, etc. Além dos parâmetros físico-químicos e da estrutura selecionada durante o cultivo, a idade da cultura (fase de crescimento) também é um fator que interfere na composição dos componentes citados acima.

O principal investimento para um projeto de obtenção de biomassa de microalgas está relacionado aos custos associados com o crescimento, coleta e isolamento da biomassa a partir do cultivo, concentração e desidratação das microalgas para posterior processamento (SINGH & GU, 2010).

3.5. PATENTES DE PROCESSOS E PRODUTOS COM MICROALGAS

Toda pesquisa que gere um produto de caráter inovador e com aplicação industrial, desde que não conste nas proibições expressa na lei, é plenamente patenteável (WOLF, 2005). As patentes em biotecnologia são aquelas que contemplam processos de produção e produtos baseados em materiais biológicos (ex.: métodos para produção de plantas transgênicas), produtos resultantes de processos biológicos (ex.: composição contendo microorganismo), e podendo incluir os próprios organismos resultantes dos processos biotecnológicos (FIGUEIREDO et al., 2006).

A busca pelo incremento da qualidade dos alimentos ingeridos pela população humana, aliada ao crescente conhecimento do amplo potencial de uso das microalgas nos mais diferentes setores da indústria tem levado a um expressivo número de patentes correlatas ao tema microalgas (Figura 7).

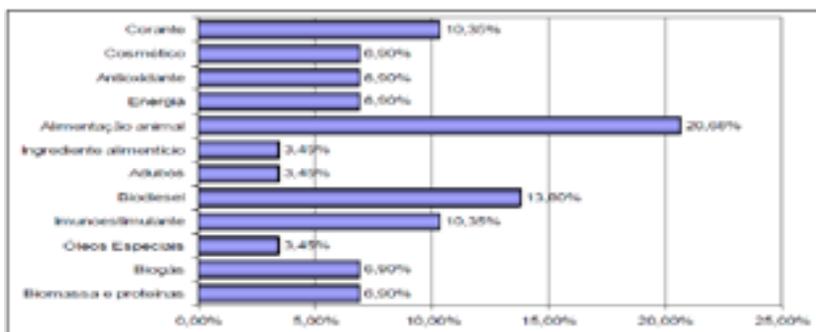


Figura 7: Principais usos nas patentes.

Fonte: Barcellos et al., 2012.

Apesar do alto número de estudos concluídos e/ou em andamento sobre esta temática, há um reduzido número de depósitos no Brasil. Apesar da posição de destaque crescente na produção científica mundial, o Brasil está no 27º colocação mundial em geração de patentes (LOURENÇO, 2006). Segundo Lourenço, apenas por ações induzidas poderá ser alcançada maior participação brasileira em inovação tecnológica, como o incentivo através de agências de pesquisa no Brasil e a interação com as empresas.

Em países desenvolvidos ou em desenvolvimento há um elevado número de depósitos de patentes sobre processos e produtos de microalgas (BARCELLOS et al., 2012). Na Universidade da Califórnia, por exemplo, 30 a 40% da receita da Universidade é originado das licenças das patentes produzidas pelos alunos e pesquisadores (WOLF, 2005).

Apesar da ausência de uma cultura de proteção à propriedade intelectual no Brasil (BARCELLOS et al., 2012), segundo Figueiredo et al (2006), o Brasil vem aumentando o número de patentes em biotecnologia seguindo as tendências mundiais.

As patentes relacionadas aos processos e produtos obtidos a partir de microalgas no Brasil estão representadas na tabela 2.

Tabela 2: Identificação dos processos, produtos e espécies utilizadas nas patentes do Brasil.

Nº Patente	Nome	Espécie
PI0710226-7A2	Extrato de microalga	Microalgas
PI0112424-2	Imunoestimulantes de microalgas	Microalgas
PI0805091-0A2	Produção de biomassa, proteínas e lipídios	Chlorella minutissima
PI0703245-5	Produção e purificação de biogás de biomassa	Microalgas e/ou cianobactérias
PI0903470-6A2	Estrutura de produção	Microalgas
PI0701072-9	Processo tecnológico de produção	Microalgas e/ou cianobactérias
PI0903984-8A2	Método de tratamentode resíduos e produção de biombustíveis	Microalgas
PI0900631-1A2	Sequestro de dióxido de carbono e obtenção de proteína	Microalgas
PI0801132-0A2	Formulação de creme antioxidante e cicatrizante de caroteno	Dunaliella
PI0605365-3	Processos de conservação da microalga Spirulinaspp	Spirulina
PI0702736-2	Fotobiorreatores tubulares para a remoção de CO2	Microalgas e/ou cianobactérias
PI0701842-8	Fotobiorreatores a remoção ou fixação CO2	Microalgas e/ou cianobactérias
PI0904515-5A2	Suporte para células-tronco oriundas de biopolímeros de microalga	Microalgas e/ou cianobactérias
PI0704911-0	Produção de óleos especiais, ingredientes alimentícios, cosméticos e biocombustíveis	Microalgas
PI0804513-5A2	Método para o crescimento de organismos fotossintéticos	Microalgas
PI0805123-2A2	Método de aproveitamento de CO2 e seu uso no cultivo de microalgas	Microalgas
PI0800141-3A2	Método para remoção de poluentes da água de produção de petróleo.	Microalgas
PI0516802-3	Mistura de óleos baseada em ingredientes bioativo	Dunaliella salina
PI0207907-0	Óleo da biomassa, preparação, composição farmacêutica, cosmética e nutricional	Microalgas
PI0703633-7A2	Sistema de agitação de baixo consumo de energia aplicado em fotobiorreatores	Microalgas
PI0903826-4A2	Obtenção de óleo a partir de resíduos industriais para combustíveis	Microalgas
PI0314034-2	Processo para preparar um óleo de biomassa algal	Microalgas

DEPÓSITO DE PATENTE: BEBIDA ALCOÓLICA FUNCIONAL DE MICROALGA: PROCESSO DE CULTIVO E PRODUÇÃO

Nº do Processo depositado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI): BR 10 2012 032930 1

RELATÓRIO DESCRITIVO DA PATENTE DE INVENÇÃO

BEBIDA ALCOÓLICA FUNCIONAL DE MICROALGA: PROCESSO DE CULTIVO E PRODUÇÃO

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção envolve processos de cultivo e obtenção de biomassa seca de microalgas (Chlorophyceae), bem como, produção de bebida alcoólica funcional de microalga.

RESUMO

A presente invenção refere-se a um processo de produção de microalgas (Chlorophyceae), somado a obtenção de um produto alcoólico bioativo a partir de microalgas, com aplicação na indústria de bebidas. Mais particularmente, a presente invenção compreende: um processo de cultivo de duas etapas com propriedades físico-químicas (primeira fase) e condições estruturais controlados para reduzir o período de cultivo da fase de sistema fechado para o aberto com um aumento do rendimento final e, um processo para produção de uma bebida alcoólica funcional a base de microalgas. Esse processo não apenas maximiza em um curto período a produtividade do cultivo por meio de duas etapas, mas também permite obter de forma econômico e simples uma biomassa de microalga seca. Além de envolver um processo para produção de uma bebida alcoólica funcional a partir de uma microalga Chlorophyceae utilizando cachaça - uma bebida popular brasileira feita a partir de cana de açúcar fermentada.

DESCRIÇÃO DO ESTADO DA TÉCNICA

Microalgas são os membros mais simples e primitivos na evolução do reino vegetal. Estes organismos realizam fotossíntese como as plantas terrestres, e na sua maioria apresentam-se como pequenas células de cerca de 3-20 µm (IBAÑEZ et al., 2012, RAZIF HARUN et al., 2010). Estas algas são onipresentes na natureza, podendo ser encontradas em zonas aquáticas variando entre fontes termais a geleiras glaciais, assim como distribuídas nos corpos de água continentais e oceânicos como fitobentos e fitoplânctons (IBAÑEZ et al., 2012).

Um número crescente de estudos têm sido conduzidos para explorar as técnicas, procedimentos e processos de produção de grandes quantidades de biomassa de microalgas, devido à sua alta taxa de crescimento e tolerância a diferentes condições ambientais (RAZIF HARUN et al., 2010, EUA B2 6524486, 2003). Existem duas técnicas que são mais utilizadas para o cultivo de microalgas: uma composta por sistema aberta em tanques e outra de sistema fechado com a utilização de fotobiorreatores (RAZIF HARUN et al., 2010). Muitos fotobiorreatores têm sido desenvolvidos para a produção de biomassa de microalgas, devido à eficiência de produção apesar de não apresentar baixo custo quando desenvolvido para produção em larga escala. Sistemas abertos, como tanques, raceway e sistemas de superfícies de canais inclinados, são comumente usados para produção em larga escala (HSIEH C. & WU, W, 2009).

Mais de 100 mil espécies de microalgas são conhecidos e a descoberta de novos usos para estas é componente importante no desenvolvimento das indústrias de bases biotecnológicas. As microalgas são eficazes: no controle biológico de pragas agrícolas, como condicionadores de solo e biofertilizantes na agricultura; como produtores de oxigênio; como removedores de nitrogênio, fósforo e substâncias tóxicas no tratamento de esgoto; na biodegradação de plantas e; na produção de biocompostos e biodiesel (B2 EUA 6.524.486, 2003). A venda de microalga (*Chlorella*) utilizado na alimentação humana, alimentação animal e como aditivo alimentar ultrapassou 38 bilhões de dólares por ano nos Estados Unidos América (EUA). Enquanto o mercado anual estimado para o ácido docosahexaenóico, um suplemento nutricional utilizado pela aquicultura produzido por microalgas (*Cryptocodinium* ou *Schizochytrium*) foi de cerca de US\$ 10 bilhões (SPOLAORE et al., 2006).

Nos últimos anos as microalgas têm recebido atenção crescente devido aos seus componentes fitometabólicos com estruturas químicas e diferentes

atividades biológicas (SKULBERG, 2004). O uso de microalgas, como fonte de alimento para saúde, alimento funcional e para produção de biomoléculas, tais como vitaminas, carotenoides, fitocianina e ácidos graxos poliinsaturados, tem efeitos positivos sobre a saúde humana e animal, devido às atividades antioxidantes elevadas de algumas destas substâncias (PULZ & GROSS, 2004, MANIVANNAN, 2012). Estudos sobre os compostos bioativos de microalgas (MARINHO-SORIANO et al, 2011) têm demonstrado efeito antitumoral, propriedades quimiopreventivas (WANG, 2010), atividade anti-inflamatória (GUZMÁN, Gato & CALEJJA, 2001), atividade antioxidante (VIJAYAVEL, et al, 2007), e atividade antimicrobiana (MAKIRIDIS, et al 2006).

O uso de alimentos para reduzir o risco de doenças tem sido um tema constante em reuniões nas áreas de alimentação e nutrição, aumentando a demanda por informações sobre alimentos funcionais e nutracêuticos. Neste sentido, esta temática tem despertando como consequência uma atenção específica para os componentes essenciais e não essenciais bioativos de alimentos, conhecidos por modificar uma série de processos celulares associados com a prevenção de doenças, incluindo o metabolismo carcinogênico, equilíbrio humoral, sinalização celular, controle do ciclo celular, apoptose e angiogênese (TRUJILLO et al, 2006).

As bebidas alcoólicas (cerveja, vinho, licor) apresentam algum valor alimentar, mesmo que apenas em termos de calorias. A Food and Drug Administration (FDA) define alimentos como "... artigos usados para comida e bebida, ou componentes de tais artigos (substância) que proporcione sabor, aroma, ou valor nutritivo". Porém, os alimentos têm outras funções do que nutrição, sabor e aroma (BRANNO, 2008) e hoje em dia, os consumidores começaram a olhar para além dos benefícios nutricionais básicas dos alimentos, estando cada vez mais interessados em compostos contidos que possam prevenir e gerar benefícios à saúde. Portanto, existe por parte da população uma ampla demanda por alimentos funcionais e produtos naturais para prevenir o desenvolvimento de doenças e o envelhecimento precoce (AGRICULTURE AND AGRI-FOOD CANADA, 2012).

Bebidas fermentadas têm feito parte da dieta do homem, desde dez mil anos antes de Cristo. Existem relatos antigos de suas propriedades medicinais, bem como os seus efeitos viciantes e destrutivos (CLAUDIAN, 1970; FORBES, 1970; WILSON, 1973; VALLE, 1994). Como consequências ao longo da história surgiram debates fervorosos sobre prós e contras do álcool (BRANNO,

2008). Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o consumo moderado de vinho e bebidas alcoólicas estão estatisticamente associados na diminuição de doenças relacionados a eventos cardiovasculares, tais como insuficiência cardíaca (TRUJILLO et al, 2006).

As pessoas, na sua maioria, reconhece o lugar do álcool na sociedade como uma droga lícita associada ao lazer. Poucos associam seu uso como medicamento, porém o desenvolvimento de álcoois concentrados e de alta qualidade apresenta vantagens paralelas nos avanços de fármacos ao longo dos tempos (VALLE, 1994). O álcool é o segundo solvente depois da água de grande importância utilizado particularmente na extração de componentes ativos das partes inertes de drogas brutas. Permite concentrar os compostos medicinalmente ativos e faz com que a solução se torne de mais fácil administração e consumo, também melhorado a sua absorção. Os compostos que normalmente se dissolvem em álcool incluem alcalóides, glicosídeos, resinas e óleos voláteis. Combinada com água gera um solvente hidroalcoólico, que age como um conservante, impedindo hidrólise e fermentação que normalmente ocorreria quando é utilizado apenas água (LINDBERG & AMSTERDAM, 2008).

A cachaça é uma bebida alcoólica produzida principalmente no Brasil, onde, 1,5 bilhões de litros (390 milhões de galões) são consumidos anualmente, em comparação com 15 milhões de litros (4,0 milhões de galões) fora do país. Possui geralmente, graduação alcóolica entre 38% e 48% de álcool em volume. Quando caseiro pode ser tão forte quanto o destilador desejar. “A principal diferença entre cachaça e rum é que o rum geralmente é feito a partir de melaço, um subproduto das refinarias que ferve o caldo de cana para extrair o máximo de açúcar cristal possível, enquanto que a cachaça é feita a partir de caldo de cana fresco que é fermentado e destilado. Como alguns rums também são feitos por este processo, a cachaça é também conhecida como rum brasileiro (WIKIPEDIA, 2012).

A correlação conhecida entre dieta e saúde demonstra as grandes possibilidades de alimentos e / ou bebidas para manter ou até melhorar a nossa saúde. Este fato tem provocado um grande interesse para a busca de novos produtos que podem contribuir para melhoria da saúde e bem-estar. Estes tipos de alimentos e / ou bebidas, capazes de promover a saúde tem sido genericamente definidos como alimento funcional.

Uma das formas mais frequentemente utilizadas pelos fabricantes de alimentos para a produção de novos alimentos funcionais é a adição de um

ou mais compostos bioativos de interesse em um alimento tradicional. Os compostos bioativos adicionados são geralmente referidos como ingredientes funcionais e são responsáveis pelas funções bioativas que o novo produto possa apresentar. Usando essa estratégia, vários alimentos funcionais já foram desenvolvidos e comercializados. Por exemplo, os produtos que possuem atividade anti-hipertensiva, efeito hipo-colesterolêmica, propriedades antioxidantes, efeitos probióticos ou prebióticos, efeitos reguladores sobre o apetite, entre outros, estão disponíveis no mercado (Ibanez, et al, 2012).

Existem patentes nacionais e internacionais relacionadas com processos e produtos a partir de microalgas como, processos de produção com o objetivo de obter biomassa, formas de conservação, produção de extratos, os produtos alimentares (US2010/0297325, 2010), farmacêuticos (US0028376, 2010), os biocombustíveis, entre outros.(PI0701072-9; PI0801270-9; PI0804611-5, WO 2008/000431, PI0703245-5, EUA 2005/0214897, EUA 2010/7785823, EP 1 138 757 e EUA 7.306.669). No entanto, não está contemplado nas patentes, métodos de processo de cultivo, secagem e produção de uma bebida alcoólica funcional a partir de microalga Chlorophyceae usando cachaça.

APRESENTAÇÃO DOS PROBLEMAS EXISTENTES

O desenho e operação dos sistemas de produção de biomassa de microalgas têm sido amplamente discutidos em vários países., As microalgas podem ser cultivadas em tanques de cultivo abertos que necessita de áreas de terra relativamente grandes para obter luz solar suficiente para realização da fotossíntese pelas microalgas. Atualmente a utilização de fotobioreatores e sistema de cultivo contínuo vêm sendo desenvolvidos, mas geralmente só apresentam-se viáveis para a produção de quantidades relativamente pequenas de microalgas (US006673592, 2006).

Há vários fatores que influenciam o crescimento de algas: fatores abióticos, como luz (qualidade e quantidade), temperatura, concentração de nutrientes, O₂, CO₂, pH, salinidade, produtos químicos tóxicos, fatores bióticos como patógenos (bactérias, fungos, vírus) e concorrência por outras algas. Entre estes fatores o fornecimento de energia para obtenção de luz artificial nos sistemas de cultivo é um dos mais caros. Desta forma, produção de microalga em laboratório utilizando apenas luz artificial é menos viável, devido alto custo de energia. Muitos sistemas diferentes de cultura foram desenvolvidos ao longo dos anos tentando atender a esses requisitos, no entanto, torna-se difícil para cultivos em larga escala. Um dos pré-requisitos importantes para o

cultivo de algas comercialmente é a necessidade de sistemas de grande escala economicamente viáveis. Alguns sistemas de culturas, como sistemas de fotobioreatores fechados, apresentam custos substancialmente mais elevados do que outros sistemas de cultura.

Uma vez coletada no sistema de cultivo, as células de microalgas contêm de 85% a 95% de água. O elevado teor de água é devido à umidade interna das células que torna difícil a sua remoção por meios mecânicos. Como resultado, a secagem da microalga de acordo com técnicas convencionais necessita de uma quantidade intensiva energia tornando o processo dispendioso, e responsável por até 30% dos custos de produção (US005276977). Além disso, muitos componentes de microalgas como clorofila, carotenoides e enzimas são rapidamente oxidados se exposta ao oxigênio e luz durante longos períodos de secagem.

Obtenção de pigmentos naturais com efeito antioxidante geralmente envolve técnicas complexas e de elevado custo, e o uso de alguns solventes são recomendados pela FDA (EUA) para alimentos, fármacos, cosméticos, apenas em baixas concentrações. Além disso, em muitos casos, tais pigmentos formam complexos com outras substâncias, presentes intracelularmente, o que torna o processo de extração laborioso e reflete no custo do produto final.

Existe um déficit de inovação na produção de bebidas alcoólicas utilizando-se compostos bioativos para a elaboração de bebidas alcoólicas funcionais. Neste sentido observa-se na indústria alcoólica a ausência de produtos alcoólicos diferenciais.

APRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO EM LINHAS GERAIS

A presente invenção vem solucionar alguns problemas mencionados, quando propõe não só um processo de cultivo, que diminui seu tempo reduzindo as etapas de cultivo, mas também, uma técnica de secagem de biomassa e obtenção de uma bebida alcoólica funcional de microalgas. Além disso, todas as etapas envolvidas na produção, secagem e obtenção da bebida é caracterizada pela simplicidade e baixo custo.

A técnica, objeto do presente pedido de patente, utiliza tanques transparente, permitindo uma melhor iluminação do sistema de cultivo, particularmente em regiões que possuem grande incidência de luz natural durante todo ano. Estes fatores permitem alta produtividade tal como redução nos custos de produção. Várias formas para realização do sistema de cultivo de microalga combinam vantagens normalmente associado a sistemas de cultivo fechados

como alta produtividade por volume com vantagens normalmente associadas a sistemas abertos, tais como, baixo custo operacional e de construção.

Outra vantagem da técnica ora exposta é que a biomassa celular pode ser separada, seca e mecanicamente rompida para extração dos componentes intracelulares por meio de simples técnicas de processo, o que torna o processo consequentemente menos custoso.

O solvente utilizado na presente invenção tem 40% de etanol em água, os quais são aceitos pela FDA (EUA) para uso alimentar. Sobretudo, a extração dos compostos bioativos da microalga com cachaça permitiu a obtenção de uma apreciável bebida alcoólica funcional inovadora.

A presente invenção também irá adicionar valor ao processo de cultivo de microalgas da classe Chlorophyceae, devido ao uso do resíduo obtido após o processo de extração. Portanto, este co-produto pode ser aproveitado para a indústria biotecnológica de nutracêuticos, alimentos e farmacêutica por possuir ainda compostos bioativos.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Sistemas e métodos para aumentar e reduzir os custos da produção de biomassa de microalgas em um sistema de cultivo vêm sendo discutidos. Neste sentido, o objetivo do presente invento foi desenvolver um método de cultivo de curto período desenvolvido em duas fases, utilizando um sistema estrutural visando elevada produtividade e redução do custo da produção.

A primeira fase do processo de cultivo da presente invenção proporciona condições ambientais e estruturais controladas maximizando o crescimento e qualidade celular. Esta primeira fase é caracterizada pelo crescimento celular contínuo e divisão celular máxima em recipientes de vidro esterilizados. Esta fase inclui o controle e manipulação dos parâmetros físico-químicos potencializando a velocidade de crescimento no cultivo.

A segunda etapa permite o cultivo em tanques fechados produzidos de material transparente e resistente à deterioração. Nesta etapa a estrutura utilizada na presente invenção permite o aproveitamento de luz natural possibilitando uma maior viabilidade econômica do sistema. Esta segunda fase é ainda caracterizada por características que permitem aumentar a velocidade de crescimento e assim maximizar o crescimento celular das microalgas condicionadas nos tanques. Um aspecto é que a homogeneização das células algais é proporcionada por um sistema de aeração originado de ar natural que é dissipado através de pequenas perfurações que permitem a homogenei-

zação de forma proporcional a toda a área do tanque. Este sistema também minimiza o estresse algal provocado muitas vezes por sistemas de aeração contínua e evita propagação de organismos contaminantes no cultivo. Ainda outro aspecto é que esta estrutura possui mesmo diâmetro do fundo circular do tanque onde é posicionado, permitindo que o fluxo do ar seja uniformemente direcionado. Além disso, nesta segunda etapa, foi encontrada uma um período de cultivo aproximadamente de 4 a 6 dias.

A presente invenção compreende um processo econômico e simples de secagem de biomassa de microalgas. Um aspecto da invenção é que este presente processo proporciona um método para separar a biomassa úmida do tanque de cultivo a partir do meio de cultivo (separação sólido-líquido). Dois ou mais métodos podem ser combinados nesta etapa de separação da biomassa úmida. Outro aspecto é que um flocculante é usado para obter a biomassa. Ainda outro aspecto, após a flocculação e conseguinte decantação das microalgas, uma bomba de sucção é mergulhado no interior do tanque para eliminar o meio aquoso. Desta forma, a biomassa úmida é recolhida e transferida para recipientes protegidos da incidência direta da luz e com circulação de ar para obter biomassa seca. Por conseguinte, este processo de secagem é um processo econômico e eficiente.

Outro aspecto da presente invenção inclui a produção de uma bebida alcoólica funcional de microalgas Chlorophyceae utilizando a cachaça - uma bebida popular brasileira feita a partir de cana fermentado. Ainda outro aspecto da presente invenção é que a metodologia utilizada proporciona extração e separação de compostos bioativos da partir das microalgas. O método compreende a mistura da biomassa seca com um solvente alcoólico (cachaça) e a ruptura das células por atrito mecânico; misturando a cachaça por um tempo e temperatura determinado, que após ser centrifugada, é obtido na fase sobrenadante um extrato alcoólico contendo compostos bioativos.

Outro aspecto ainda é que nesta última etapa descrita, a fase precipitada do processo de extração, a biomassa residual do processo, é ainda um produto que poderá ser usado na indústria biotecnológica, de alimentos, nutracêutica e farmacêutica.

DESCRIÇÃO DETALHADA DO INVENTO

Esta descrição detalhada da invenção é dividida em três partes. A Parte I descreve métodos do cultivo das microalgas (descrito em primeira e segunda etapa). A Parte II, em duas sub-partes, descreve métodos para a coleta de

biomassa de microalgas, assim como a metodologia para a secagem desta biomassa. Parte III descreve a metodologia para a criação da bebida funcional da presente invenção e os métodos utilizados para combinar a biomassa seca das microalgas e o todo o processo para obtenção da bebida. Biomassa de microalgas, biomassa de algas, e biomassa significa um material produzido pelo crescimento e ou propagação de células de microalgas. A biomassa pode conter células e ou incluir material intracelular, mas não está limitado a, compostos secretados por uma célula (EUA 2010/0297325).

Parte I - A presente invenção refere-se a um sistema de cultivo caracterizado por possuir custos de operação e construção relativamente baixo, composto por poucas etapas de produção e de elevada qualidade. Os aspectos da realização da metodologia são descritas em duas etapas a seguir em maior detalhe. A primeira etapa do método inclui o cultivo em ambiente controlado. Nesta etapa são utilizados apenas dois momentos de inoculação: em ambos as microalgas são anteriormente manipuladas com relação aos parâmetros de crescimento e inoculadas na fase exponencial a fim de maximizar a produtividade celular, assim como obter uma maior qualidade das culturas. As microalgas são condicionadas em recipientes de vidro de 30-80 mL no primeiro momento, e então transferidos para o segundo e último volume desta etapa; recipientes de vidro de 1-5L, estes acoplados a um sistema de aeração (ar filtrado). O meio utilizado para o crescimento algal é composto por água enriquecida com macro e micronutrientes seguindo a composição do Meio Provasoli (modificações no meio poderão ser realizadas de acordo com a composição química da água). Os recipientes de vidro assim como o meio de cultura são previamente esterilizados. As culturas são mantidas uma temperatura (entre 18 - 22°C) e pH (entre 6-9) controlados. As culturas são submetidas a uma iluminação através da lâmpadas tubulares fluorescentes (branca e fria) com intensidade luminosa entre 1000 - 8000 Lux com fotoperíodo integral. A duração desta primeira etapa é de aproximadamente 6 a 8 dias. As microalgas utilizadas na presente invenção incluem Chlorophyceae e / ou uma variedade de microalgas.

Após a primeira etapa do cultivo, as algas são transferidas para a segunda etapa realizada em ambiente externo. Nesta segunda etapa o cultivo é realizado em dois modelos de tanques com volumes distintos, aeração contínua e os parâmetros físicos não são controlados, sendo utilizada a iluminação e fotoperíodo natural. Para desenvolver o crescimento das microalgas, a água utilizada nos tanques é enriquecida, mas não limitada, a adição de: uréia,

NaNO₃, EDTA, KOH, FeSO₄, MgSO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄, CaCl₂, H₃BO₃, CuSO₄, MoO₃, MnCl₂, ZnSO₄. Um aspecto da presente invenção é que as duas estruturas dos tanques circulares fechados utilizados nesta etapa são produzido com material transparente. Este fato, aliado ao sistema de aeração, permiti a incidência da luz solar em todas as direções da estrutura do tanque permitindo o aproveitamento pelas microalgas durante o cultivo. Outro aspecto, é que a estrutura dos tanques possibilita mantê-los fechados, inibindo a contaminação da cultura por insetos, bem como outros contaminantes possíveis. O tanque de cultivo pode ter dimensões diferentes, dependendo da capacidade desejada para o sistema de cultivo de algas. Em algumas situações a profundidade do tanque de cultivo poderá ser maior que cerca de cinquenta centímetros. Em outras situações esta profundidade pode ser superior a cinquenta centímetros. Outro aspecto da presente invenção é a homogeneização das células algais durante esta segunda etapa de cultivo. A estrutura de aeração é inserida na parte inferior interna, possuindo o mesmo diâmetro do fundo dos tanques permitindo que o fluxo do ar seja uniformemente direcionado. Ainda outro aspecto é que esta estrutura possui pequenos otifícios que a liberação do ar no sentido inferior – superior, possibilitando uma homogeneização uniforme além de minimizam o impacto sobre as microalgas no sistema. Adicionalmente, o desenho dos tanques circular evita a formação de pontos mortos (região não alcançada pelo sistema de aeração) contribuindo para evitar a propagação de organismos contaminantes no cultivo. Além disso, nesta segunda etapa, foi encontrada uma taxa de produção de biomassa de 0.2 a 0.4 gramas por litro no tanque da fase final e em um período de cultivo aproximadamente de 4 a 6 dias.

Nesta etapa não apenas os tanques, mas toda a estrutura de aeração pode ser desmontada para desinfecção de forma simples e prática sempre que se julgar necessário.

Parte II- Outro aspecto da presente invenção proporciona um método extremamente viável para a recuperação e obtenção biomassa do meio de cultivo. As microalgas presentes no tanque de cultivo foram coletadas a partir de um processo inicial de separação das microalgas da solução da cultura (separação sólido-líquido). Dois ou mais métodos podem ser combinados nesta etapa. Nesta etapa a utilização de floculantes para separar as células do meio líquido e obter a biomassa algal podem ser usados, incluindo o uso do reagente Hidróxido de Sódio. A utilização concentração de floculante depende dos parâmetros químicos do cultivo. Nesta etapa de floculação foi possível

retirar entre 85 - 98% de água da cultura, obtendo assim a biomassa úmida. A concentração das microalgas em volume mínimo de água possibilita reduzir a necessidade da centrifugação, normalmente aplicado para a separação da biomassa do meio de cultura no cultivo convencional. Outro aspecto nesta etapa é que após a decantação das células, provocada pela ação do floculante, uma bomba de sucção é inserida na parte inferior do tanque a uma altura de aproximadamente 30 a 50 cm do fundo com o objetivo de eliminar a fase líquida sobrenadante obtida após o processo de floculação descrito acima. A biomassa úmida é coletada através de uma válvula localizada na parte inferior do tanque de cultivo e transferida para recipientes plásticos com largura de aproximadamente 30x40cm e profundidade de 5 a 10 cm. Ainda outro aspecto é que estes recipientes são protegidos da incidência direta da luz e mantidos a uma temperatura de cerca de 22-30 ° C e circulação de ar para secagem biomassa seca. Em algumas situações este processo de secagem pode levar um dia. Em algumas situações este processo de secagem pode levar dois dias. Em algumas formas de realização do processo de secagem pode leva dois dias. A metodologia utilizada nesta etapa buscou obter uma metodologia eficiente e com custos reduzidos de separação e obtenção de biomassa seca.

Parte III- Ainda outro aspecto da presente invenção contempla a extração de compostos bioativos das microalgas utilizadas obtidos através da utilização da cachaça. A invenção trata-se de uma bebida alcoólica apreciada, uma bebida funcional. As características da presente invenção é obtida por um método inovador para extrair as substâncias produzidas pelas microalgas utilizadas no processo citado nas etapas acima, utilizando uma bebida alcoólica tradicional brasileira.

Nesta etapa a cachaça foi inserida em recipiente contendo biomassa seca da microalga utilizando uma proporção de aproximadamente 1% do seu peso seco. Foi utilizado um processo de maceração mecânica com o objetivo de romper a parede das células algais. A utilização desta metodologia vem possibilitar a aplicação desta invenção na escala piloto e industrial. Neste aspecto a extração dos compostos intracelulares ocorre com a inserção gradativa de cachaça, iniciando a uma concentração média de 200% deste solvente no recipiente contendo a microalga. Ainda outro aspecto é que todo o processo é realizado protegido da incidência direta da luz. A extração dos compostos intracelulares da microalga inicia-se através do processo de ruptura celular com a utilização de um aparato de vidro com um pistão. Os movimentos e deslocamento repetitivo do pistão permitem a colisão sobre a superfície rígida

do recipiente e das células algais. Neste processo ocorre a ruptura das células ou parte delas ocorrendo a liberação gradativa dos compostos bioativos de interesse. Após a fase de ruptura celular a extração dos compostos na solução (mistura cachaça e microalga) é realizada utilizando uma câmara agitadora por um período aproximado de 2 horas, seguido de centrifugação (4000 rpm) durante 10 minutos. O sobrenadante obtido é separado e condicionado em outro recipiente, sendo caracterizado como o produto final da presente invenção: uma bebida alcoólica funcional. Ainda outro aspecto é que a biomassa precipitada foi mantida refrigerada, podendo ser utilizado e aplicada nas indústrias de biotecnologia alimentícia, nutracêutica e farmacêutica. Resultados prévios obtidos demonstram atividade anti-oxidante para esta amostra. A qualidade do produto advinda pela atividade antioxidante do produto obtido pela presente patente pode ser atribuída a componentes bioativos presentes na biomassa das microalgas utilizadas na presente invenção.

Neste sentido, a presente invenção estabelece um método de produção de uma bebida que compreende a combinação de biomassa de microalgas, sob a forma de pó ou flocos de células com um líquido comestível, obtendo assim uma bebida alcoólica nutricional.

Em alguns casos, a biomassa algal utilizada para fazer a composição alimentar deste processo citado acima compreende uma espécie ou uma mistura de pelo menos duas ou mais distintas microalgas. Em alguns casos, pelo menos, duas das espécies distintas de microalgas foram cultivadas separadamente. Outro aspecto ainda é que pelo menos, duas das espécies distintas de microalgas possuem diferentes perfis de compostos bioativos.

Outra consideração é que a utilização da microalga pode ser contribuir para reduzir o sabor forte da cachaça convencional. A presente invenção, opcionalmente, inclui ainda um sabor suave originado das microalgas. A invenção tem um sabor leve, não forte, suave, não áspera. O sabor suaviza o paladar na degustação. Outro aspecto é o cheiro leve, não possuindo um forte odor, geralmente observado em tradicionais bebidas etílicas. O odor é caracterizado como um odor característico de microalgas. Ervas diversas, plantas aromáticas ou extratos dos mesmos, podem também ser incluídos nas composições de produtos por várias razões diversas, tais como o sabor ou para os seus próprios benefícios potenciais para a saúde (No. Pub: 2010/0119667 A1 data Pub: May 13,2010).

O presente invento demonstra um processo que resulta em um eficiente cultivo obtenção de biomassa e isolamento de um extrato alcoólico de microal-

gas usando um protocolo de um custo benefício eficiente. Outro aspecto, e de fundamental importância para esta invenção é a característica não tóxica do solvente utilizado, evitando a presença de resíduos tóxicos encontrados no processo final.

REIVINDICAÇÃO

1. Processos de cultivo e obtenção de biomassa seca de microalgas (*Chlorophyceae*), bem como, produção de bebida alcoólica funcional de microalga.
2. O processo da reivindicação 1, apresentam reivindicações caracterizado por:
 - 2.1. Um processo de cultura de duas etapas com condições físico-químicas controladas (primeira etapa do cultivo) e estruturais para reduzir o período de produção do sistema de cultivo;
 - 2.2. Um processo econômico e simples de separação e secagem de biomassa de microalgas.
 - 2.3. Um processo de produção de um produto alcoólico bioativo com propriedades funcionais a partir de microalgas *Chlorophyceae*.
3. O processo da reivindicação 1 em que envolva a produção de microalgas caracterizado também por *Chlorella* sp. e/ou *Scenedesmus* sp.
4. O processo da reivindicação 2.1 caracterizado por compreender ainda, em algumas formas de realização da profundidade do tanque de cultivo podendo ser maior que cinquenta centímetros, ou cerca de cinquenta centímetros.
5. O processo da reivindicação 4 além capacidade de volume da estrutura é caracterizado por uma estrutura de produção de microalgas com material transparentes.
6. O processo da reivindicação 5 também está caracterizado por aproveitamento da luz natural pelas microalgas durante o processo de cultivo.

7. O processo da reivindicação 2.2 mais o método caracterizado pela separação das células do meio de cultura.
8. O método da reivindicação 7 adicionado ao processo caracterizado por converter a biomassa úmida em seca.
9. O processo da reivindicação 2.3 em que a composição do produto está caracterizada por uma extração com cachaça.
10. O processo da reivindicação 9 também está caracterizado pelo baixo custo da ruptura das células de microalgas por abrasão mecânica das células.
11. O processo da reivindicação 9 somado a produção caracterizado por a obtenção de uma bebida alcoólica funcional de microalga diferente e apreciável.
12. O processo da reivindicação 9 acrescentado a um processo de aproveitamento caracterizado pela biomassa residual (coproduto) e seu aproveitamento pelas indústrias nutraceuticas, alimentares, farmacêuticas e biotecnológicas.

3.6. POSSIBILIDADE DE APLICAÇÃO DO CULTIVO DE MICROALGAS NO ESTADO DE SERGIPE

O sucesso no cultivo de microalgas para alimentação de animais aquáticos inseriu o Brasil no cenário internacional envolvendo esta temática, principalmente relacionada com sua absorção direta em larviculturas de camarões e moluscos marinhos. No estado de Sergipe, a utilização é a mesma, com a produção de microalgas em escala comercial direcionada exclusivamente para alimentação de larvas do camarão marinho *Litopenaus vannamei*. Atualmente existe apenas um laboratório de produção, que utiliza duas espécies de um mesmo grupo taxonômico, as diatomáceas *Thalassiosira* sp. e *Chaetoceros* sp. Estas espécies são produzidas utilizando o cultivo semicontínuo, o tipo de cultivo geralmente empregado no Brasil. Os tanques são geralmente rasos, construídos em concreto, fibra de vidro, policarbonato ou revestido com material plástico e as culturas são constantemente agitadas. A utilização das condições naturais de iluminação e temperatura de Sergipe (média anual de 26° C),

assim como nos demais estados do Nordeste brasileiro principalmente, apresentando altos índices de luz natural e consequentemente temperaturas mais elevadas, proporcionam uma maior produtividade destes microorganismos.

Com relação às atividades de pesquisas relacionadas à utilização das microalgas no estado, os projetos em desenvolvimento visam principalmente a inclusão da produção destas: no tratamento de efluentes, aproveitamento de resíduos nos sistemas de cultivo, na absorção de CO₂ pelas células algais e por fim a produção da biomassa com fins biotecnológicos.

Apesar do potencial do estado na presente temática, empresas consolidadas envolvendo cultivo de microalgas ainda não são representativas e a utilização aplicada destas, assim como todos os produtos consumidos a partir de sua biomassa, como cápsulas para complemento alimentar e fármacos, não existem ou são importados de outros países (as microalga mais importadas são *Spirulina* sp. e *Chlorella* sp.). Apesar disto, é crescente o desenvolvimento de linhas de pesquisas envolvendo o cultivo e aplicações das microalgas no estado de Sergipe. As condições climáticas, assim como a material humano, investimentos, e a inter relação entre diferentes áreas de pesquisas envolvidas nesta temática, são fatores que se agregam e podem possibilitar perspectivas interessantes na produção de microalgas e sua utilização no estado.

3.7. REFERÊNCIAS

ABALDE, J.; BETANCOURT, L.; TORRES, E.; CID, A.; BARWELL, C. **Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. IO9201.** *Plant Science*,136, 109-120, 1998.

ABD EL-BAKY, H.H., EL BAZ, F.K., EL-BAROTY, G.S., **Evaluation of marine alga *Ulva lactuca* L. as a source of natural preservative ingredient.** *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science* 3 (3), 434-444, 2008.

ALGAE BIOTECNOLOGIA LTDA. ALGAE.<http://www.algae.com.br/>,2012.

AMARO, HM, GUEDES, AC, MALCATA, FX. **Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel.** *Applied Energy*, 88, 3402–3410, 2011.

BARCELLOS, A. D., BARRETO A. G. S. S., MACHADO, B. A. S., DRUZIAN, J. I. **Microalgas e seu potencial de uso.** *Congresso Brasileiro de Prospecção Tecnológica.* *Cadernos de Prospecção - ISSN 1983-1358 (print) 2317-0026 (online)*, 5, 4, 178-18, 2012.

BATISTA, A.P., NUNES, M.C., RAYMUNDO, A., GOUVEIA, L., SOUSA, I., CORDOBES F., GUERRERO, A., FRANCO, J.M. **Microalgae biomass interaction in biopolymer gelled systems.** *Food Hydrocolloids*, 25, 817-825, 2011.

BECKER, E.W. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology.** Cambridge University Press, Cambridge, 291 p., 1993.

BEHRA, R., GENONI, G. P., JOSEPH, A. L. **Effect of Atrazine on Growth, Photosynthesis, and Between-Strain Variability in *Scenedesmus subspicatus* (Chlorophyceae).** *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 37, 36–41, 1999.

BEN-AMORTZ, A. **Bioactive compounds: Glycerol Production, Fatty Acids Production.** In: Ben-amortz, A., Polle, J. E. W., Rao, D. V. S. **The Alga *Dunaliella*: Biodiversity, physiology, genomics and biotechnology.** Science Publishers. 1st ed. p. 189-190. 2009.

BHADURY, P., WRIGHT, P. C. **Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications.** *Planta*, 219, 561- 578, 2004.

BOROWITZKA, M. A. **Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds.** *Journal Applied Phycology*, 7, 3–15, 1995

BOROWITZKA, M.A. **Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters.** *Journal of Biotechnology*, 70, 313–321, 1999.

BRENNAN L, OWENDE P. **Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products.** *RenewSustain Energy*,14, 557–77, 2010.

BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; VOLKMAN, J. K.; DUNSTAN, G. A. **Nutritional properties of microalgae for mariculture.** *Aquaculture*, 151, 315 – 331, 1997.

CÉSPEDA, C. L.; EL-HAFIDI, M.; PAVON, N.; ALARCON, J. **Antioxidant and cardioprotective activities aff phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae),** Maqui. *Food Chemistry*, 107, 820-829, 2008.

CHA K. H., KANG S. W., KIM C. Y., UM B. H., NA Y. R., PAN C.-H. **Effect of Pressurized Liquids on Extraction of Antioxidants from *Chlorella vulgaris*.** *J. Agric. Food Chemistry*, 58, 4756–4761, 2010.

CHAUMONT, D. **Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture.** *Journal of Applied Phycology*, 5, 593-604, 1993.

CHU W-L. **Biotechnological applications of microalgae.** *IcJSME*: 6 (Suppl 1): S24-S37. 2012

CHU, F. L., PIRASTRU, L., POPOVIC, R., SLENO, L. **Carotenogenesis Up-regulation in *Scenedesmus* sp. Using a Targeted Metabolomics Approach by Liquid Chromatography- High-Resolution Mass Spectrometry.** *Journal Agricultural Food Chemistry*, 59, 3004–3013, 2011.

CLAEFF **Engenharia e produtos químicos LTDA.** CLAEFF. <http://www.claeff.com.br/tecnologias/ativos-vegetais.html>. 2012

COUTTEAU, P., SORGELOOS, P. **The requirement for live algae and the use of algal substitutes in the hatchery and nursery rearing of bivalve mollusc: as international survey.** *Journal Shellfish Resource*, 11, 467-476, 1992.

CULTURE COLLECTION OF ALGAE AND PROTOZOA, CCAP.
<http://www.ccap.ac.uk>, 2012.

DANTAS, D. M. M. **As microalgas para produção de biodiesel**. In: **Zanella, Ingrid**. In: Um olhar para o futuro: Temas ambientais. Nossa Livraria, Recife, Brasil, v.1, 181-198. 2012.

DAUS, B., WEISS, H., ALTENBURGER, R. **Uptake and toxicity of hexafluoroarsenate in aquatic organisms**. *Chemosphere*, 78 ,307–312, 2010.

DEAN A. P., SIGEE D. C., ESTRADA, B., PITTMAN, J. K. **Using FTIR spectroscopy for rapid determination of lipid accumulation in response to nitrogen limitation in freshwater microalgae**. *Bioresource Technology*, 101, 4499–4507, 2010.

DEL CAMPO, J. A., GARCIA-GONZALEZ, M., GUERRERO, M. G. **Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives**. *Applied Microbiology Biotechnology*,74, 1163–1174, 2007.

DERNER, R. B., OHSE S., VILLELA, M., CARVALHO, S. M., FETT R. **Microalgas, produtos e aplicações**. *Ciência Rural*, v.36, n.6, p.1959-1967, 2006.

FCTUC, **Algoteca da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra**. <http://www.uc.pt/ftuc/noticias/2009/n20091020n03>. 2012

FIGUEIREDO, L. H. M., PENTEADO, M. I. O., MEDEIROS, P. T. **Patentes em biotecnologia, patenteamento em biotecnologia agropecuária: cenário brasileiro**. *Biologia, Ciência e Desenvolvimento*. Ano IX, 36, 32-39, 2006,

GOMEZ-GUTIERREZ, C., GUERRA-RIVAS, M. G., SORIA-MERCADO, I. E., AYALA-SANCHEZ, N. E. **Marine Edible Algae as Disease Preventers**. In: Kim, S-K. *Advances in Food and Nutrition Research*, Academic Press of Elsevier, Cap. 3, p. 30-37, 2011.

GREENWELL, H. C., LAURENS, L.M.L, SHIELDS, R.J. LOVITT, R.W, FLYNN, K.J. **Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of**

the technological challenges. Journal of the Royal society interface, 7, 703-7206, 2010

GRIMA, E. M., FERNANDEZ, F.G. A., MEDINA, A. R. **Downstream Processing of Cell-mass and Products.**In:Richmond, A. (ed) Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology.Blackwell Science, Oxford, p. 215-252, 2004.

GÜÇLÜ Z., ERTAN Ö. O. **Toxicity and Removal of Zinc in the Three Species (*Acutodesmus obliquus*, *Desmodesmus subspicatus* and *Desmodesmus armatus*) Belonging to the Family, Scenedesmaceae (Chlorophyta).** Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 12, 309-314,2012.

GUZMAN, S, J. M. **Antiinflammatory, analgesic and free radical scavenging activities of the marine microalgae *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricorutum*.** Phytotherapy Research,15, 224–230,2001.

HARITH, Z. T., YUSOFF, F. M., MOHAMED, M. S., DIN, M. S. M., ARIFFL, A. B. **Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, *Chaetoceros calcitrans*, cells.**African Journal of Biotechnology, Vol. 8 (21), pp. 5971-5978, 2009.

HARUN, R; SINGH, M.; FORDE, G.; DANQUAH, M. **Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products.**Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14 1037–1047, 2010.

HEASMAN, M., DIEMAR, J., O'CONNOR, W., SUSHAMES, T., FOULKES, L. **Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation by bivalve molluscs – a summary.** Aquaculture Research, 31, 637-659, 2000.

HU, Q., GUTERMAN, H., RICHMOND, A. **A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs.** Biotechnol. Bioeng.51, 51–60, 1996.

HU Q., SOMMERFELD, M., JARVIS, E., GHIRARDI, M., POSEWITZ, M., SEIBERT, M., DARZINS, A. **Microalgal triacylglycerols as feedstocks**

for biofuel production: perspectives and advances. *The Plant Journal*, 54, 621–639, 2008.

HUO S., WANG, Z., ZHU, S., ZHOU, S., DONG R., YUAN, Z. **Cultivation of *Chlorella zofingiensis* in bench-scale outdoor ponds by regulation of pH using dairy wastewater in winter, South China.** *Bioresource Technology*, 121, 76–82, 2012.

JIANG, Y., YOSHIDA, T., QUIGG, A. **Photosynthetic performance, lipid production and biomass composition in response to nitrogen limitation in marine microalgae.** *Plant Physiology and Biochemistry*, 54 70e77, 2012.

JIANG, Y., ZHANG, W., WANG, J., CHEN, Y., SHEN, S., LIU, T. **Utilization of simulated flue gas for cultivation of *Scenedesmus dimorphus*.** *Bioresource Technology*, 128 359–364, 2013.

KATHARIOS, P., PAPADAKIS, I.E., PRAPAS, A., DERMON, A.C., AMPATZIS, K., DIVANACH, P. **Mortality control of viral encephalopathy and retinopathy in 0+ grouper *Epinephelus marginatus* after prolonged bath in dense *Chlorella minutissima* culture.** *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 25, 28–31, 2005.

KIM, S. K., & WIJESEKARA, I. **Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review.** *Journal of Functional foods*, 2, 1–9, 2010.

Korea Marine Microalgae Culture Center .KMMCC. <http://www.kmmcc.re.kr/> 2012.

LEÓN, R., GALVÁN, A., FERNANDÉZ, E. **Transgenic Microalgae as Green Cell Factories.** *Advances in experimental medicine and biology*. vol 616. 142 p, Springer Science, 2007

LOURENÇO S. O. *Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações.* Rima, São Carlos, Brasil. 606 pp., 2006.

LÜRLING, M. LANGE, H.J., DONK, E.V. **Changes in food quality of the green alga *Scenedesmus* induced by *Daphnia* infochemicals: biochemical composition and morphology.** *Freshwater Biology*.38 619-628, 1997.

MA, M., ZHU W., WANG, Z., WITKAMP, G. J. **Accumulation, assimilation and growth inhibition of copper on freshwater alga (*Scenedesmus subspicatus* 86.81 SAG) in the presence of EDTA and fulvic acid.** *Aquatic Toxicology*, 63, 221-228, 2003.

MATA, T. M., MARTINS, A. A., CAETANO, N. S. **Microalgae for biodiesel production and other applications: a review.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.14:217–32, 2010.

MATSUKAWA, R.; DUBINSKY, Z.; KISHIMOTO, E.;MASAKKI, K.; MASUDA,Y.; TAKEUCHI, T. A. **Comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds.** *Journal Applied Phycology*.,9, 29-35, 1997.

MARIUTTI L. R. B. e BRAGAGNOLO N. **Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae - Aplicação em Produtos Alimentícios,** *Brazilian Journal Food Technology*, 10, 2, 96-103, 2007.

MOLINA-GRIMA, E., FERNANDEZ, F. G. A., MEDINA, A. R. **Downstream Processing of Cell-mass and products.** In: RICHMOND, A. (Ed). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology.* Blackwell Science, Oxford, 215-250, 2004.

MORAES, CAROLINE COSTA. BURKERT, JANAINA FERNANDES DE MEDEIROS. KALIL, SUZANA JULIANO. **C-phycoyanin extraction process for large-scale use.***Journal of Food Biochemistry*, 34, 1, 133–148, 2010.

NATIONAL CENTER FOR MARINE ALGAE AND MICROBIOTA. NCMA. <http://ccmp.bigelow.org> .2012.

OLAIZOLA, M. **Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace.** *Biomolecular Engineering*, 20, 459-466, 2003.

PARISI, A. S, YOUNES, S., REINEHR, C. O., COLLA, L. M. **Avaliação da atividade antibacteriana da microalga *Spirulina platensis***. Rev Ciênc Farm Básica Apl., 30, 3, 297-301, 2009.

PEREZ-GARCIA, O., ESCALANTE, F. M., DE BASHAN, L. E. Y BASHAN, Y. **Heterotrophic cultures of microalgae: metabolismo and potencial products**. Water Research, 45, 11-36, 2011.

PULZ, O.; GROSS, W. **Valuable products from biotechnology of microalgae**. Applied Microbiology and Biotechnology. 65, 635 – 648, 2004.

RAJA R., HEMAISWARYA, S. **Microalgae and Immune Potential**. In: Watson R. R., Zibadi S., Preedy V. R. Dietary Components and Immune Function. Humana Press, London, 515-527, 2010.

RAVEN, P.H., EVERT, R.F. & EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**, Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 6a. ed. Coord. Trad. J.E. Kraus. 906 p., 2001.

RAWAT, I., KUMAR, R. R., MUTANDA, T., BUX, F. **Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production**. Applied Energy, 103, 444–467, 2013.

ROSA, JORGE MIGUEL, CARVALHO. **Modelação e Optimização de uma Unidade de Produção de Microalgas**. Dissertação de Mestrado na área científica de Engenharia Química. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 95 paginas, 2011.

RICHMOND, A. Handbook of Microalgal Culture: **Biotechnology and Applied Phycology**. John Wiley & Sons. 584 páginas, 2004.

ROCHA FILHO, P. A. **Fitocósméticos. Cosmetic & Toiletries**, 7, 2, 18-20, 1995.

SAMARAKOON, K., JEON, Y.-J. **Bio-functionalities of proteins derived from marine algae- A review.** Food Research International, 48, 948–960, 2012.

SCHENK, PM, THOMAS-HALL, SR, STEPHENS, E, MARX, UC, MUS-SGNUM, JH, POOSTEN, C. **Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production.** BioEnergy Research;1:20–43,2008.

SCHOLZ, B., LIEBEZEIT, G. **Screening for biological activities and toxicological effects of 63 phytoplankton species isolated from freshwater, marine and brackish water habitats.** Harmful Algae, 20 , 58–70, 2012.

SEIXAS, P., COUTINHO, P., FERREIRA, M., OTERO, A. **Nutritional value of the cryptophyte Rhodomonas lens for Artemiasp.** Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 381,1–9, 2009.

SHI, J. **Removal of nitrogen and phosphorus from municipal wastewater using microalgae immobilized on twin-layer system.** Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität zu Köln. Tese de doutorado,174 paginas, 2009.

SIGEE, D.C., BAHRAM, F., ESTRADA, B., WEBSTER, R.E., DEAN, A.P. **The influence of phosphorus availability on carbon allocation and P quota in Scenedesmus subspicatus: a synchrotron-based FTIR analysis.** Phycology, 46, 583–592, 2007.

SILVEIRA, S.T.; BURKERT, J.F.M.; COSTA, J.A.V., BURKERT, C.A, KAILIL, C. J. **Optimization of phycocyanin extraction from Spirulina platensis using factorial design.** Bioresource Technology, 98,8, 1629-1634, 2006.

SINGH, J., GU, S. **Commercialization potential of microalgae for biofuels production.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14, 2596–2610, 2010.

SIRIN, S., TROBAJO, R., IBANEZ, C., SALVADO, J. **Harvesting the microalgae Phaeodactylum tricornutum with polyaluminum chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity-induced flocculation.** Journal of Applied Phycology, 24, 5, 1067-1080, 2012.

SKULBERG, O.M. **Bioactive chemicals in microalgae.** In: **Richmond, A. (ed) Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology.** Blackwell Science, Oxford. p.485-512, 2004.

SOEDER C. J., HEGEWALD E. **Scenedesmus.** In: Borowitzka M. A., Borowitzka L. J. *Micro-algal Biotechnology.* Cambridge University Press, Cambridge, p.59-84, 1988

SOEDER, C. **A historical outline of applied phycology.** Handbook of Microalgal Mass Culture, CRC Press, Florida, pp. 25-41, 1986.

SOLAZYME. <http://solazyme.com/pt-br>. 2012.

SPINOLA, M. V. **Inhibición de la enzima fitoeno desaturasa y acumulación de fitoeno en microalgas :** el irna como mecanismo de silenciamiento génico. Tese de doutorado. Huelva, Universidad de Huleva. Facultad de ciencias experimentales Dpto. de Química y Ciencia de los Materiales “Profesor Jose Carlos Vilchez Martín”. 216 páginas, 2010.

SRIRAM,S., SEENIVASAN, R. **Microalgae Cultivation in Wastewater for Nutrient Removal.** Journal of Algal Biomass Utilization, 3, 2, 9- 13, 2012.

TAYZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAKAGI, M., KARSENIO, YOSHIDA, T. **Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae Dunaliella cells.** J. Biosciense Bioengineer, 101, 223–226, 2006.

TOMASELLI, L. **The microalgal Cell.** In: Richmond, A. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell, Oxford, p.3-19, 2004.

TRAMPER, J., BATTERSHILL, C., BRANDENBURG, W., BURGESS, G., HILL, R., LUITEN, E., MÜLLER, W., OSINGA, R., RORRER, G., TREDICI, M., URIZ, M., WRIGHT, P., WIJFFELS, R. **What to do in marine biotechnology?** Biomol. Eng., 20, 467–471, 2003

TREVIÑO, I. F. **Estudios taxonomicos em algas verdes cocales em Sur de España.** Tese Doutorado. Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Botanica. 336 páginas, 2008.

UTEX, **The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin.** UTEX. URL: <http://web.biosci.utexas.edu/utex/Search.aspx>. 2012.

VANDAMME, D., PONTES, C. S. V., GOIRIS, K., FOUBERT, I., PINOY, L. J. J., MUYLEAERT, K. **Evaluation of Electro-Coagulation–Flocculation for Harvesting Marine and Freshwater Microalgae.** Biotechnology and Bioengineering, 108, 10, 2011.

VENDRAMINI, A. L. A.; TRUGO, L. C. **Phenolic Compounds in Acerola Fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.).** Journal Brazilian Chemistry Society, 15, 5, 664-668, 2004.

VIJAYAVEL, K., ANBUSSELVAM, C. & BALASUBRAMANIAN, M. P. (2007). **Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats.** Molecular Cell Biochemistry, 303, 39–44.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. do C. E. **Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica.** Quím.Nova, 27, 1, 2004.

WANG, H.-M., PAN, J.-L., CHEN, C.-Y., CHIU, C.-C., YANG, M.-H., CHANG, H.-W., CHANG, J.-S. **Identification of anti-lung cancer extract from *Chlorella vulgaris* C-C by antioxidant property using supercritical carbon dioxide extraction.** Process Biochemistry, 45, 1865–1872, 2010.

WIKFORS, G.H. & OHNO, M. **Impact of algal research in aquaculture.** Journal of Physiology, 37, 968-974, 2001.

WILSON, K. E., HUNER, N.P. A. **The role of growth rate, redox-state of the plastoquinone pool and the trans-thylakoid Delta pH in photoacclimation of *Chlorella vulgaris* to growth irradiance and temperature.** Planta, 212:93–102, 2000.

WILTSHIRE, K. H., BOERSMA, M., MÖLLER, A., BUHTZ, H. **Extraction of pigments and fatty acids from the green alga *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae).** *Aquatic Ecology*, 34: 119–126, 2000.

WIND, T., BELANGER, S. E. **Acute and Chronic Toxicity of Alcohol Ethoxylates to the Green Alga, *Desmodesmus* (= *Scenedesmus*) *subspicatus*, and the Subsequent Development of Structure-Activity Relationships.** *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 76:218–225, 2006.

WOLF, M. T. **A pesquisa científica e as patentes.** *Biocombustíveis, Ciência e Desenvolvimento*, 16-17. 2005

YAMAGUCHI, K. **Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review.** *J. Appl. Phycol.*, 8, 487–502, 1997.

ZENG, X., DANQUAH, MK, CHEN, XD, LU, Y. **Microalgae bioengineering: from CO₂ fixation to biofuel production.** *Renew Sustain Energy Rev.*, 15, 3252–60, 2011.

4. CAPÍTULO II– MACROALGAS

4.1. HISTÓRICO, BIOLOGIA E TAXONOMIA DAS MACROALGAS

A vida surgiu no mar há cerca de 3,5 bilhões de anos e seus habitantes constituem o sistema mais diversificado do planeta. Dos micro-organismos as algas e animais, quase a totalidade dos filos tem representantes nos mares. Esses seres vivos guardam muitas substâncias desconhecidas que atuam na comunicação entre espécimes, na defesa contra herbívoros ou predadores, entre competidores, na reprodução ou simplesmente como produto de seu metabolismo. Uma substância que atua como mediador químico para um

organismo pode também ser a esperança para o tratamento ou cura de muitas doenças conhecidas (Brasil, 2010).

Desde a antiguidade, as algas marinhas são exploradas como fonte de alimento por várias civilizações, principalmente as orientais, como no Japão, China e Coréia, onde até hoje integram o cardápio cotidiano desses povos (McHugh, 2003). As propriedades nutricionais das algas marinhas não são tão bem conhecidas como aquelas das plantas superiores, porém vários estudos têm demonstrado que apesar de deficientes em lipídeos, são ricas em proteínas, polissacarídeos, minerais e vitaminas (Darcy-Vrillon, 1993; Mabeau e Fleurence, 1993; Dawczynski et al., 2007).

As algas podem ser divididas levando-se em conta a cor dos pigmentos fotossintéticos nelas encontrados. Entre estas divisões duas são representadas por algas procarióticas, compreendendo as divisões Cyanobactéria e Prochlorophyta. Já as algas eucarióticas são distribuídas em várias divisões, destacando-se as Divisões Rhodophyta (algas vermelhas), Phaeophyta (algas marrons ou pardas), Chlorophyta (algas verdes) e Euglenophyta (Raven et al., 1996; South & Whittick, 1987; Van Den Hoek et al., 1989; Wyne, 2005).

De um modo geral, as macroalgas marinhas apresentam grande diversidade referente ao seu modo de vida. A maioria vive fixa a substrato sólido, sobretudo rochas ou corais mortos, embora algumas espécies apresentem adaptações para crescerem sobre o substrato não consolidado como fundos areno-lodosos (Oliveira, 2002). As macroalgas da divisão Rhodophyta apresentam em especial, maior riqueza de táxons de valor econômico, principalmente os gêneros *Digenia*, *Gracilaria*, *Gelidiella*, *Gelidium*, *Hypnea* e *Pterocladia* (Marinho-Soriano, 1999). Segundo Bellorin (2002) a macroalga *Gracilaria* é o gênero mais bem representado de algas vermelhas, com mais de 100 espécies reconhecidas e, além disso, se distribuem na maior parte dos mares tropicais e temperados do mundo (Oliveira e Plastino, 1994). Desta forma, esse gênero destaca-se por ser a principal fonte mundial de ágar (Oliveira e Aveal, 1990; Oliveira et al., 2000).

4.2. MACROALGAS: PRODUÇÃO, CULTIVO E AQUICULTURA

As macroalgas do gênero *Ulva* (NUNES, 2002; TYLER et al., 2005; COPERTINO et al., 2009; YOKOYAMA e ISHIHI, 2010; AL-HAFEDH et al., 2012; SÁNCHEZ et al., 2012) e *Gracilaria* (NEORI et al., 2004; ABREU

et al., 2011; SHUKRI e SURIF, 2011; SKRIPTSOVA e MIROSHNIKOVA, 2011; ROBLEDO et al., 2012) são as mais promissoras para o cultivo integrado com camarões, pois são eficientes na remoção de nutrientes e podem ser fonte de alimento suplementar para os camarões marinhos.

As macroalgas do gênero *Ulva*, são algas verdes da família Ulvaceae, possuem bom nível de proteína bruta e lipídios. A espécie *U. lactuca* possui 10,69g de proteína bruta e 0,99g de lipídios a cada 100g de peso seco (TABARSA et al., 2012). Já as macroalgas do gênero *Gracilaria* são algas vermelhas do filo Rhodophyta e também possuem bom nível de proteína bruta e lipídios. A espécie *G. birdiae* possui 12,6g de proteína e 1,1g de lipídios totais e *G. domingensis* possui 16,6g de proteína e 1,6g de lipídios totais a cada 100g de peso seco (FRANÇA-PIRES et al., 2012a,b). Entretanto, a composição centesimal das macroalgas pode variar de acordo a espécie, habitat e condições ambientais, como salinidade, temperatura e concentração de nutrientes na água de cultivo (MARINHO-SORIANO et al., 2006; CRUZ-SUÁREZ et al., 2010).

Segundo Portillo-Clark et al. (2012) os cultivos integrado podem melhorar a qualidade da água, aumentar o crescimento dos camarões e a sua resistência a doenças, no entanto, é necessário mais trabalhos para determinar as espécies que são mais adequadas, pois o exato papel na nutrição dos camarões não é conhecida e a sua utilização para aumentar a produção de cultivo ainda encontra-se em fase experimental.

As macroalgas marinhas têm sido cultivadas há séculos nos países orientais, onde são amplamente utilizadas na alimentação, fazendo parte da culinária popular. Alimentos como “nori”, “kombu”, “wakame”, são amplamente populares em países como no Japão, China e Coreia. Atualmente a utilização desses alimentos encontram-se em processo de incorporação nos hábitos alimentares do ocidente (Lépez et al., 2004).

A biomassa algal para uso industrial pode ser proveniente de bancos naturais (extrativismo) ou de cultivo. Entretanto, a sustentabilidade da indústria de macroalgas reside nos cultivos, uma vez que os bancos naturais não são suficientes para atender a crescente demanda que vem sendo intensificada nas últimas décadas, principalmente na produção de ficocolóides e para o uso na alimentação (Critchley, 1997; Oliveira et al., 2000).

A produção mundial de macroalgas em 2010 foi de 19 milhões de toneladas, onde 95,5% desta produção foram provenientes de cultivos, gerando aproximadamente US\$ 57 bilhões. Os principais países produtores em 2010

foram: China (58,4%, 11,1 milhões de toneladas), Indonésia (20,6%, 3,9 milhões de toneladas), Filipinas (9,5%, 1,8 milhões de toneladas), República da Coreia (4,7%, 901.700 toneladas), República Popular Democrática da Coreia (2,3%, 444.300 toneladas), Japão (2,3%, 432.800 toneladas), Malásia (1,1%, 207.900 toneladas) e a República Unida da Tanzânia (0,7%, 132.000 toneladas), representando 99,6% da produção mundial. Os principais grupos cultivados foram: *Laminaria japonica*, *Kappaphycus alvarezii*, *Eucheuma* spp., *Gracilaria* spp., *Porphyra* spp., *Undaria pinnatifida*, *Fusiform sargassum* e *Caulerpa* spp. (FAO, 2012). Dessa forma, a opção de cultivo torna-se a alternativa mais interessante, pois diminui a pressão sobre os estoques naturais além de ser um potencial para o desenvolvimento das regiões costeiras (Marinho-Soriano, 2005).

Desta forma, do ponto de vista econômico as algas são utilizadas como alimentos para o homem e animais e seu interesse nutricional está baseado em seu reduzido valor calórico e elevado teor de vitaminas, minerais e fibras dietárias (Ito & Hori, 1989). A macroalga *Gracilaria birdiae* é uma das principais espécies brasileiras que serve como fonte de carboidrato de origem algal, além de fornecer produtos imprescindíveis para a vida do homem moderno (Maciel et al., 2007). Sendo, considerada uma importante fonte de matéria-prima na produção do ágar (Oliveira & Aveal, 1990; Oliveira et al., 2000).

O ágar é um polissacarídeo extraído principalmente das famílias Gelidiaceae e Gracilariaceae pertencentes à Rhodophyta. Sua principal característica é a capacidade de formar um gel consistente à temperatura ambiente, em pequenas concentrações em água (Valiente et al., 1992). Este composto é amplamente empregado em vários ramos da indústria: na indústria alimentícia (fabricação de gelatinas, queijo, enlatados, doces e outros); farmacêutica (laxativo, emulsificante e estabilizante para medicamentos); e pesquisa laboratorial (meio de cultura para plantas e microorganismos diversos, e como meio de inclusão para cortes histológicos). Possui também várias outras aplicações, como na fabricação de moldes dentários, produtos cosméticos e papel (Bezerra, 2008).

O crescente mercado do ágar tem como consequência principal o aumento da demanda da matéria prima para sua produção. Sendo assim, vem se observando uma crescente exploração dos estoques naturais de *Gracilaria*, gerando escassez e contribuindo para a diminuição desses estoques (Marinho-Soriano, 2005).

Segundo Teixeira & Costa, (2008), os bancos naturais de algas representam junto com os manguezais o berçário da biodiversidade marinha e são fundamentais para a atividade pesqueira. OLIVEIRA & MIRANDA (1998) indicou que em alguns bancos do litoral nordestino havia sinais claros de sobre exploração, causado pelo manejo inadequado. Nesse sentido, o cultivo de algas pode ser uma alternativa interessante para diminuir a pressão sobre os estoques naturais além de ser um potencial para o desenvolvimento das regiões costeiras (Marinho-Soriano, 2005).

A espécie é amplamente coletada nos bancos naturais da costa nordeste para extração do ágar (Plastino & Oliveira, 2002) e nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte, vem sendo cultivada em escala piloto nos módulos flutuantes de estruturas do tipo long line (Carvalho Filho, 2004), por estar em fase experimental, a sua produção ainda é pequena nessas regiões.

Os principais sistemas de cultivo são: balsas, long-line ou gaiolas, porém a escolha da estrutura de cultivo depende da correnteza, do fluxo e refluxo da água, do tipo de fundo, da profundidade do ambiente, do acesso ao local, dos fenômenos naturais e conflitos com outras atividades (SEAP, 2003).

No Brasil, vários estudos experimentais foram desenvolvidos (Lima et al., 1981; Câmara-Neto, 1987; Oliveira, 1997; Marinho-Soriano et al., 2002; Marinho-Soriano, 2005; Marinho-Soriano et al., 2006). No entanto, apesar dos resultados positivos obtidos, ainda não foi possível implantar o cultivo de macroalgas em escala comercial. Na região Nordeste, projetos experimentais vêm sendo desenvolvido com o objetivo do uso racional desse recurso marinho, visando principalmente à sustentabilidade da atividade extrativista pela sustentável (maricultura), em comunidades litorâneas, primeiramente nos estados Rio Grande do Norte, Ceará, Paraíba (Carvalho Filho 2004; Miranda et al. 2004, Teixeira et al., 2004). Mais um projeto foi desenvolvido em Pernambuco no município da praia de Pau Amarelo, entre os anos de 2007 a 2009 através do projeto PROALGAS patrocinado pelo Programa Petrobras Ambiental (Figuras 1 a 6).

No nordeste do Brasil, tradicionalmente a coleta predatória de algas nativas existe desde a década de 70. Nos últimos dez anos, iniciativas a partir de projetos de pesquisa e extensão têm tentado desenvolver o cultivo de macroalgas, obtendo êxito em alguns experimentos com a espécie *Gracilaria birdiae* nessa região. (Teixeira et al. 2000; Teixeira, 2004).

De acordo com MASI-H-NETO (2006), um sistema semi-intensivo para cultivo de algas, sendo utilizadas densidades de 48 long-lines por hectare,

ocupando uma área de 1 ha de lâmina d'água e pode ser classificado como um empreendimento de pequeno porte com produtividade estimada em cerca de 3 t/ciclo, sendo 6 ciclos/ano com produção de mais de 18 toneladas/ano resultando em uma receita estimada em R\$ 72.000,00./ano.

No litoral do Ceará o cultivo do gênero *Gracilaria* vem sendo realizado em parceria com uma comunidade pesqueira, mostrando altas taxas de crescimento e boas perspectivas para expansão (Teixeira et al., 2002). Modelos de estruturas em cultivo experimental com *G.domingensis* foram utilizados por CABRAL et al., (2003), na praia de Pititinga, Rio Grande do Norte, um sistema de três telas tubulares compartimentadas de 1m de comprimento (cultivo em balsas) dispostas paralelas umas as outras; e em gaiolas quadradas com 50 cm de lado. Contudo, a expansão da atividade em âmbito nacional requer uma avaliação mais ampla dentro de um panorama de desenvolvimento sustentável através de estudos que delimitem as áreas e sistemas adequados de cultivo (Masih-Neto, 2006).

Uma atividade para ser considerada sustentável tem que possuir sustentabilidade econômica, social e ecológica. Sendo assim, o estudo do cultivo da macroalga *G. birdiae* em regiões potenciais, envolvendo comunidades litorâneas, bem como, a análise de seus produtos representa o principal passo para o desenvolvimento sustentável da maricultura.

4.3. APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA GERAL DAS MACROALGAS

As macroalgas marinhas são organismos promissores na síntese de compostos biologicamente ativos, pois vivem em ambientes com várias interações biológicas e condições abióticas extremas e, para a sua sobrevivência, desenvolveram estratégias de defesa, resultando na produção de um grande número de compostos químicos a partir de diferentes rotas metabólicas.

As macroalgas podem ser utilizadas para a produção de ficocolóides e de substâncias bioativas (MARINHO-SORIANO et. al., 2011), matéria prima para as indústrias de fármacos e cosméticos (NEORI et al., 2004), fabricação de papel, fertilizantes agrícolas, tratamento de vermes, aglutinantes de rações (PAGAND, 1999), consumo humano (SANTOPRETE e BERNI, 2011), alimentação animal, biomassa para combustível, indústria têxtil e remoção de metais tóxicos (MCHUGH, 2003).

As macroalgas marinhas do litoral brasileiro apresentam um grande potencial biotecnológico, portanto, investimentos nas pesquisas são funda-

mentais para a geração de produtos e de processos que garantam a conservação dos bancos naturais e o uso sustentável deste importante recurso marinho.

Aplicação farmacêutica e cosméticos

Outra importante função das macroalgas e a presença dos componentes farmacológicos e bioativos como: β -glucano, carragenina, sulfatos, laminarina e polissacarídeos (galactose), que possuem atividade antibacteriana e antiviral. Estes componentes quando absorvida pelos camarões, aumenta a resposta imune dos mesmos (HUYNH et al., 2011; SIRIRUSTANANUN et al., 2011; CRUCES et al., 2012; PESO-ECHARRI et al., 2012; SILVA et al., 2013c), reduzindo as taxas de mortalidade por doenças bacteriana e viral, que causam grande mortalidades. Esta característica torna ainda mais importante, pois estes componentes podem ser uma alternativa ao uso indiscriminado de antibióticos que pode aumentar a resistência dos patógenos, além do alto custo do uso e da restrição pela legislação (KANDHASAMY e ARUNACHALAM, 2008).

Alguns estudos relatam que os extratos de macroalgas via alimentação ou banhos de imersão, têm aumentado à sobrevivência de camarões infectados por *Vibrio*: *Sargassum fusiforme* (HUANG et al., 2006); *Gelidium amnassi* (FU et al., 2007); *Sargassum hemiphyllum* (HUYNH et al., 2011); *Gracilaria fisheri* (KANJANA et al. 2011); *Ulva fasciata* (SELVIN et al., 2011); *Gracilaria tenuistipitata* (SIRIRUSTANANUN et al., 2011), por vírus: *Sargassum* spp. (IMMANUEL et al., 2010, 2012); *Sargassum hemiphyllum* (HUYNH et al., 2011); *Gracilaria tenuistipitata* (LIN et al., 2011); *Gracilaria tenuistipitata* (SIRIRUSTANANUN et al., 2011); *Sargassum wightii* (SIVAGNANAVAL-MURUGAN et al., 2012).

Biorremediação

O desarranjo e a eliminação de contaminantes ambientais por organismos vivos são chamados de biorremediação.

Outra função das macroalgas é a contribuição da biorremediação de nutrientes da água, pois segundo Xu et al. (2008a) entre 52-95% do nitrogênio e 85% do fósforo que entram via ração nos sistemas de aquicultura tradicional são perdidos no ambiente. Já Avnimelech (2009) descreve que apenas 25% dos nutrientes adicionados como alimento peletizados são incorporados pelos animais.

Entretanto, esta incorporação pode variar com a espécie, sistema de cultivo e o nível de proteína das rações; Hari et al. (2006) encontrou em sistema extensivo de *Penaeus monodon* com diferentes níveis de proteína e adição de carboidrato na água uma incorporação de 16 a 21 % de nitrogênio na biomassa despesada. Teichert-Coddington et al. (1999) e Briggs e Funge-Smith (1994) encontraram em sistema semi-intensivo com *L. vannamei* incorporação de 14 e 18% do nitrogênio do sistema, respectivamente. Em relação a sistemas intensivos, Jackson et al. (2003) no cultivo de *P. monodon* encontraram entre 21 e 22% e Thakur e Lin (2003) entre 23 a 31%, já para o cultivo de *L. vannamei* em sistema de bioflocos, Silva et al. (2013b) encontraram 39% nitrogênio e 35% fósforo retido na biomassa despesada do camarão.

O restante dos nutrientes não assimilados pelos camarões pode ser disponibilizado em forma de efluentes, gerando eutrofização dos corpos adjacentes. Para tratar ou minimizar as descargas de nutrientes, podemos utilizar macroalgas que podem transformar estes resíduos em biomassa, contribuindo significativamente para biorremediação da água de cultivo (TROELL et al., 2003; MATOS et al., 2006; NEORI, 2008; HE et al., 2008; ROCHA et al., 2008; RAMOS et al., 2008; MARINHO-SORIANO et al., 2009 a,b, 2011; ALENCAR et al., 2010; HUO et al., 2011, 2012; SHUKRI e SURIF, 2011; SKRIPTSOVA e MIROSHNIKOVA, 2011; NIRMALA et al., 2012; ROBLEDO et al., 2012; CARTON-KAWAGOSHI et al., 2013).

As macroalgas podem absorver entre 34% a 94% da amônia da água, 11 a 57% do nitrito, 7 a 100% do nitrato e entre 34 e 93% do fosfato (Tabela 3). Segundo Jones et al. (2001, 2002) a utilização de macroalgas e/ou moluscos bivalves como organismos biorremediadores é uma importante ferramenta para redução de nutrientes dos cultivos de camarão, contribuindo com a sustentabilidade da atividade. Esta biorremediação reduz os impactos aos ambientes adjacentes e não denegrir a imagem da atividade perante alguns ramos da sociedade civil, apesar da aqüicultura poluir menos que diversas outras atividades ligadas à produção de alimentos (BRITO et al., 2004). Alonso – Rodrigues e Páez–Osuna (2003) relatam que os efluentes da carcinicultura apresentam melhores qualidades físicas e químicas da água comparada às descargas domésticas tratadas.

Esta remoção de compostos nitrogenados e fósforo pelas macroalgas melhoram a condição da água de cultivo, proporcionando incremento nos resultados de crescimento e produção dos camarões (XU et al., 2008b; KHOI e FOTEDAR, 2011). Porém ocorre redução da taxa de remoção de nutrientes

da água durante o período de cultivo (MAI et al., 2010), pois fatores como concentração inicial de amônia e fosfato, salinidade, temperatura, turbidez, ciclo de vida, taxa de crescimento e biomassa de estocagem das macroalgas, interferem na eficiência de absorção (CHOPIN et al., 2001; THI et al., 2012; DU et al., 2013).

Outro fator importante da utilização das macroalgas é sua utilização como fonte de alimento, seja pela pastagem diretamente das macroalgas e/ou do biofilme que se forma na área superficial (LOMBARDI et al., 2006). O biofilme é definido como a comunidade de microrganismos compostos pelos organismos autotróficos e heterotróficos associados a uma matriz celular aderidas a um substrato submerso (VIAU et al., 2013), que além de contribuir como fonte de alimento para camarões, também melhora a qualidade da água de cultivo (AUDELO-NARARJO et al., 2011; ANAND et al., 2012). O aumento do crescimento dos camarões em sistemas tradicionais integrado com macroalgas já foram descritos para as espécies: *L. vannamei* (CRUZ-SUÁREZ et al., 2010; PEÑA-RODRIGUEZ et al., 2010; GAMBOA-DELGADO, 2011), *P. monodon* (TSUTSUI et al., 2010; IZZATI, 2011) e *Farfantepenaeus californiensis* (PORTILLO-CLARK et al., 2012).

Tabela 3. Eficiência na remoção de nutrientes das macroalgas dos gêneros *Ulva* e *Gracilaria*.

Referência	Espécies	%	%	%	%
		remoção Amônia	remoção Nitrito	remoção Nitrato	remoção Fosfato
Ramos et al. (2008)	<i>U. fasciata</i>	38	11	27	49
Copertino et al. (2009)	<i>U. clathrata</i>	70 - 82	-	-	50
Marinho-Soriano et al. (2009a)	<i>G. caudata</i>	59	-	-	-
Marinho-Soriano et al. (2009b)	<i>G. birdiae</i>	34	-	100	93
Alencar et al. (2010)	<i>U. lactuca</i>	94	-	-	-
Ramos et al. (2010)	<i>U. fasciata</i>	49	31	-	-
Shukri e Surif (2011)	<i>G. manilaensis</i>	83	33	68	-

Skriptsova e Miroshnikova (2011)	<i>G.vermiculophylla</i>	73	-	-	34
Marinho-Soriano et al. (2011)	<i>G. caudata</i>	-	57	70	-
Khoi e Fotedar (2011)	<i>U. lactuca</i>	59 - 81	-	-	-
Abreu et al. (2011)	<i>G. vermiculophylla</i>	80	-	-	-
Huo et al. (2011)	<i>G. verrucosa</i>	54	49	75	49
Al-Hafedh et al. (2012)	<i>U. lactuca</i>	80	-	-	41
	<i>G. arcuata</i>	83	-	-	41
Robledo et al. (2012)	<i>G. córnea</i>	61 - 88	23	-	-

Além disso, a utilização das macroalgas em sistema integrado com camarão, favorecer maior transformação do nitrogênio do sistema de cultivo em biomassa de camarão (KHOI e FOTEDAR, 2011), aumentando os níveis do ácido docosaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA) e carotenóides nos tecidos dos camarões (CRUZ-SUAREZ et al., 2010). Além da prevenção do bloom do fitoplâncton, aumentando a diversidade das espécies (HUO et al., 2011; MARINHO-SORIANO et al., 2011).

Nas últimas décadas, existiram consideráveis impactos na produção oriundos dos surtos de doenças em sistemas tradicionais de cultivo, que afetaram significativamente a gestão operacional das fazendas por todo o mundo (MISHRA et al., 2008). Neste sentido, a produção de camarões está sempre em busca de técnicas de manejo que melhorem a eficiência da administração dos alimentos, da qualidade da água e dos solos, assegurando um cultivo ambientalmente amigável (BRITO et al., 2010, 2011).

Algumas estratégias têm sido sugeridas ou mesmo utilizadas, a fim de minimizar a emissão ou reutilizar os nutrientes, dentre elas a utilização do sistema integrado de cultivo utilizando macroalgas (ALENCAR et al., 2010; ABREU et al., 2011; MARINHO-SORIANO et al., 2011; SKRIPTOSA e MIROSHNIKOVA, 2011; AL-HAFEDH et al., 2012; ROBLEDO et al., 2012).

A integração de macroalgas com peixes e camarões tem sido reconhecida como uma das mais promissoras abordagens para reduzir o excesso de nutrientes liberados pela atividade aquícola, devido à elevada eficiência na

absorção dos nutrientes através da atividade fotossintética, pelas altas taxas de crescimento, produzindo grande quantidade de biomassa que pode ser aproveitada em diversos produtos comerciais (extração de ficocoloides, extratos, fertilizantes) (CHOPIN et al., 2001; NEORI et al., 2004; SANTOS, 2006). No entanto, mais trabalhos são necessários a fim de determinar as espécies que são mais adequadas para o cultivo integrado com camarões (PORTILLO-CLARK et al., 2012), pois a escolha depende da sua utilização comercial, a eficiência na remoção de nutrientes e a habilidade de crescimento em condições hipertróficas (SKRIPTOSA e MIROSHNIKOVA, 2011; ABREU et al., 2011).

Métodos utilizando macroalgas para o tratamento de efluentes em sistemas de cultivos na aquicultura foram iniciados na década de 1970 (HAINES, 1975; LANGTON et al., 1977; HARLIN et al., 1978). Já na década de 1990, com a ligeira expansão dos sistemas intensivos de cultivo (peixes, camarão) e a crescente preocupação com efeitos negativos para o meio ambiente, impulsionaram pesquisas relacionadas à utilização de macroalgas para absorver nutrientes da água de descarga (VANDERMEULEN e GORDIN, 1990; COHEN e NEORI, 1991; BUSCHMANN et al., 1994, 2001; NEORI e SHPIGEL, 1999).

Estudos demonstraram que as águas residuais provenientes da aquicultura (cultivo de peixes e camarões) é uma fonte adequada de nutrientes para a produção intensiva de macroalgas, reduzindo assim, a descarga de nutrientes dissolvidos para o ambiente, pois a amônia (NH₃) e o ortofosfato (PO₄³⁻)-liberados são respectivamente, as fontes de nitrogênio e de fósforo mais utilizadas nos processos metabólicos pelas macroalgas (NEORI, 1996; CHOPIN e WAGEY, 1999). Além disso, algumas espécies em culturas integradas metabolizam outros nutrientes presentes na água e os utilizam para seu crescimento (TROELL et al., 1999).

Esta eficiência da redução de nutrientes sofre variação, dependendo das condições da cultura, tais como, luz, profundidade e concentração de nutrientes dissolvidos (BUSCHMANN et al., 2001; TROELL et al., 2003), salinidade da água (THI et al., 2012), taxas de renovação de água, biomassa de estocagem das macroalgas, além do ciclo de vida desses organismos (CHOPIN et al., 2001; MARINHO-SORIANO et al., 2009 a,b).

As macroalgas do gênero *Ulva* (RAMOS et al., 2008, 2010; YOKOYAMA e ISHIHI, 2010; COPERTINO et al., 2009; ALENCAR et al., 2010; AL-HAFEDH et al., 2012; SÁNCHEZ et al., 2012; THI et al., 2012) e Gra-

cilaria (MARINHO-SORIANO et al., 2009 a,b, 2011; ABREU et al., 2011; ROBLEDO et al., 2012) são as mais promissoras para o cultivo integrado com camarões, pois eficientes na remoção de nutrientes e podem ser fonte de alimento suplementar para os camarões marinhos. As macroalgas do gênero *Ulva* são algas verdes da família Ulvaceae, possuem bom nível de proteína bruta e lipídios e tem como principal carotenóide a luteína (CRUZ-SUÁREZ et al., 2009). Além disso, possuem 24% dos ácidos graxos totais na forma de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) (TABARSA et al., 2012). Já as macroalgas do gênero *Gracilaria* são algas vermelhas do filo Rhodophyta, utilizadas como matéria prima de vários produtos comerciais, além de ser fonte de alimento para os humanos (NEORI et al., 2004). Possuem também bom nível de proteína bruta e lipídios, além de 17% dos ácidos graxos totais na forma de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) (TABARSA et al., 2012). Entretanto, sua composição bioquímica pode variar de acordo a espécie, habitat e condições ambientais, como salinidade, temperatura e concentração de nutrientes na água de cultivo (MARINHO-SORIANO et al., 2006; CRUZ-SUÁREZ et al., 2010).

Avanços na genética molecular de macroalga

A Engenharia Genética aplicada à maricultura busca o desenvolvimento de raças e transgênicos de animais marinhos de valor econômico, capazes de produzir mais, em menos tempo e com baixo custo. Por exemplo, três grupos de substâncias químicas extraídas de algas marinhas destacam-se no cenário pós-guerra de descobertas biotecnológicas: alginatos, agar e carrageninas. A produção anual de algas marinhas coletadas in natura para a extração desses três hidrocolóides é de aproximadamente 55 mil toneladas, que valem cerca de US\$ 585 milhões. O valor agregado dessa produção, no âmbito de todas as indústrias que as utilizam, chega a US\$ 5,6 bilhões por ano. O uso de novas tecnologias baseadas em Biotecnologia genética e biologia molecular podem ajudar a preservar as espécies marinhas produtoras desses importantes produtos (Brasil, 2010).

4.4. BUSCA DE PATENTES ENVOLVENDO ALGAS NO BRASIL

Até o primeiro trimestre de 2015 foi possível encontrar o registro de depositadas 118 patentes no Brasil contendo nos seus títulos a palavra “algas” (INPI, 2015). Destes, 27 foram depositados no período de 2011 a 2012, o que pode ser observado no resultado da consulta de bases de dados do INPI abaixo:

Consulta à Base de Dados do INPI

[[Pesquisa Base Marcas](#) | [Pesquisa Base Desenhos](#) | [Pesquisa Base Programas](#) | [Ajuda?](#)]

» Consultar por: [Base Patentes](#) | [Finalizar Sessão](#)

RESULTADO DA PESQUISA (12/03/2015 às 22:27:44)

Pesquisa por:

Todas as palavras: 'ALGAS no título' \ Foram encontrados **118** processos que satisfazem à pesquisa. Mostrando página 1 de 4.

Processo	Depósito	Título
BR 11 2014 013154 6	30/11/2012	COMPOSIÇÕES PARA TRATAMENTO DE ALGAS EM SISTEMAS DE ÁGUA ESTAGNADA E RECIRCULANTE
BR 11 2014 010922 2	01/11/2012	PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DE ALGAS CASTANHAS, POLISACARÍDEOS DE ALGAS CASTANHAS, PROCESSO PARA PREPARAR ALGINATO DE SÓDIO COM FRAGMENTOS RICOS EM ÁCIDO MANURÔNICO E ALGINATO DE SÓDIO COM FRAGMENTOS RICOS EM ÁCIDO MANURÔNICO
BR 11 2014 003226 2	10/08/2012	CAPTURE DE CO ₂ PROMOVIDA POR ENZIMA INTEGRADA À PRODUÇÃO DE ALGAS
BR 11 2014 003766 3	20/07/2012	PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE ÁCIDO 4-AMINOBTÍRICO A PARTIR DE ALGAS
BR 11 2013 033983 7	02/07/2012	TRATAMENTO TÉRMICO DE ÓLEO DE ALGAS BRUTO
BR 11 2013 032011 7	13/06/2012	MÉTODO DE CULTIVO E COLHEITA DE BIOMASSA DE ALGAS, APARELHO PARA CULTIVO DE MICROALGAS, SISTEMA PARA O CULTIVO E A COLHEITA DE BIOMASSA DE MICROALGAS
BR 10 2012 012549 8	25/05/2012	EQUIPAMENTO DE RETIRADA DE ÓLEO PARA BIOCOMBUSTÍVEL, BIOMASSA, PROTEÍNAS DE ALGAS E PROCESSO PARA RETIRADA DESTE ÓLEO

BR 10 2012 012550 1	25/05/2012	EQUIPAMENTO PARA OTIMIZAR A PROLIFERAÇÃO DE ALGAS EM TANQUES FECHADOS
BR 11 2013 024553 0	31/03/2012	MÉTODO E DISPOSITIVO PARA FORNECER CALOR E DIÓXIDO DE CARBONO PARA VEGETAIS E/OU ALGAS USANDO GASES DE COMBUSTÃO DE UMA ESTAÇÃO DE ENERGIA
BR 11 2014 019976 0	01/03/2012	EXTRAÇÃO DE SOLVENTE DE PRODUTOS DE ALGAS
BR 11 2013 014135 2	07/12/2011	SISTEMA DE CULTIVO DE PLANTAS UTILIZANDO FOSFÍTO COMO UM NUTRIENTE E COMO UM AGENTE DE CONTROLE DE ERVAS DANINHAS E ALGAS
BR 11 2013 030989 0	03/11/2011	EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE ALGAS
BR 11 2012 032946 4	20/06/2011	PROCESSO PARA PRODUZIR HIDROCARBONETOS SELETIVOS DE ALGAS, MATERIAL DE ALIMENTAÇÃO PARA USO NA PRODUÇÃO DE HIDROCARBONETOS SELECIONADOS E PROCESSO PARA PRODUZIR HIDROCARBONETOS E FERTILIZANTE ORGÂNICO DE UM MATERIAL DE ALIMENTAÇÃO
BR 11 2012 032044 0	10/06/2011	SISTEMA PARA SUPORTE DE CRESCIMENTO DE ALGAS COM DIÓXIDO DE CARBONO ADSORVIDO
BR 11 2012 032079 3	09/06/2011	SISTEMA DE DISTRIBUIÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO DE BIOCOMBUSTÍVEL DE ALGAS
BR 11 2012 029065 7	10/05/2011	MÉTODO PARA PRODUZIR UM ÓLEO DE HIDROCARBONETO A PARTIR DE BIOMASSA DE ALGAS
BR 11 2012 029636 1	02/05/2011	DESENHO DE LAGO DE CRESCIMENTO DE MICRO ALGAS
BR 11 2012 027045 1	22/04/2011	ALGAS TRANSGÊNICAS COM EXPRESSÃO DE ÓLEO MELHORADA
BR 11 2012 026241 6	14/04/2011	COMPOSIÇÃO ALIMENTÍCIA, MÉTODO PARA PREPARAR UM ALIMENTO AERADO, PRODUTO DE CARNE, MÉTODOS PARA MELHORAR A TEXTURA NA BOCA E A VIDA DE PRATELEIRA DE UMA COMPOSIÇÃO ALIMENTÍCIA, E, FARINHA DE ALGAS
BR 11 2012 025326 3	06/04/2011	“EXTRAÇÃO SELETIVA DE PROTEÍNAS DE ALGAS DE ÁGUA SALGADA”
BR 11 2012 025584 3	06/04/2011	EXTRAÇÃO SELETIVA DE PROTEÍNAS DE ALGAS DE ÁGUA DOCE
BR 11 2012 025591 6	06/04/2011	MÉTODOS E SISTEMAS PARA ISOALAR PRODUTOS CAROTENOIDES E ÓLEOS RICOS EM ÔMEGA-3 DE ALGAS

BR 11 2012 025495 2	06/04/2011	MÉTODOS E SISTEMAS PARA DESIDRATAR ALGAS E RECICLAR ÁGUA DAS MESMAS.
BR 11 2012 025494 4	06/04/2011	EXTRAÇÃO SELETIVA DE PROTEÍNAS DE ALGAS DE ÁGUA DOCE OU ÁGUA SALGADA.
BR 11 2012 022914 1	11/03/2011	SISTEMA FOTOBIOREATOR E MÉTODO PARA CONTER CRESCIMENTO DE ALGAS
BR 11 2012 020444 0	18/02/2011	USO DE UMA PREPARAÇÃO DE KELP SÓLIDA OU LÍQUIDA, MÉTODO PARA ESTIMULAR O CRESCIMENTO DE FRUTOS DO MAR E PARA AUMENTAR QUANTITATIVA E/OU QUALITATIVAMENTE O CRESCIMENTO DE ALGAS.
BR 11 2012 020518 8	15/02/2011	MÉTODO PARA PREVENIR PROLIFERAÇÃO EXCESSIVA DE CIANOBACTÉRIAS E ALGAS, E PARA INIBIR O DESENVOLVIMENTO DE ESPÉCIES BACTERIANAS PATOGÊNICAS.

4.5. PARTE DA DISSERTAÇÃO “ESTUDO DE CULTIVO E DE BIOMOLÉCULAS DA MACROALGA GRACILARIA BIRDIAE (RHODOPHYTA, GRACILARIALES)” ENVOLVENDO SISTEMA DE CULTIVO

4.5.1. CULTIVO DA MACROALGA *G. birdiae* NA PRAIA DE PAU AMARELO

MATERIAIS E MÉTODOS

O cultivo da *G. birdiae* foi realizado na praia de Pau Amarelo, localizada no município de Paulista, estado de Pernambuco, próximo ao Forte de Pau Amarelo entre as coordenadas 07° 54'51,6" S e 34° 49'04,8"W, a uma distância de aproximadamente 170 m da linha de praia com profundidade batimétrica local de aproximadamente 1,50 m (Figura 1). O experimento foi dividido em duas fases: a primeira teve início em 01 de janeiro de 2009 e perdurou até 01 março de 2009 (período seco) e a segunda de 15 de maio a 28 de junho de 2009 (período chuvoso).



Figura 1. (A) Praia de Pau Amarelo no município de Paulista do litoral de Pernambuco; (B) local de cultivo da macroalga *G. birdiae*; (C) localização dos bancos naturais de algas.

As algas utilizadas no experimento de cultivo foram coletadas no banco natural da praia de Pau Amarelo ($07^{\circ} 54'58,5''$ S e $34^{\circ} 49'10,4''$ W) localizado na região infralitoral, sob uma faixa de recife de arenito característico da região.

As algas foram coletadas manualmente em profundidades de 20 cm a 50 cm durante o período de baixa-mar (maré de sizígia). Para esse estudo foram selecionadas as frondes que apresentavam boa aparência fisiológica e que estavam sem estruturas reprodutivas evidentes.

Nesse estudo, foram utilizadas seis estruturas de cultivo do tipo “long line”: três para o período seco e três para o chuvoso. Cada long line apresentava 30 m de comprimento cada uma, confeccionada com material reciclado:

cordas recicladas de polietileno (12 mm); para a flutuação das estruturas utilizou - se garrafas pet's a cada 1,50 m em toda estrutura, deixando 2 m de corda sem flutuadores em cada extremidade da mesma; e a ancoragem foi obtida através de “garatêias artesanais” (poitas) confeccionadas com pedras e madeiras. A sinalização das estruturas foi feita através de bandeirolas artesanais, confeccionadas com bambu, retalho de tecido, pedaço de isopor reutilizado e tijolo para manter o equilíbrio (Figura 2). Mudas de *G. birdiae* com peso médio de 80 g foram amarradas por fitilhos (cordão de poliamida) nas cordas à intervalos de 15 cm. A distribuição das estruturas de cultivo foram de forma paralela, distando aproximadamente 5 m entre uma e outra, tanto para o período chuvoso quanto para o seco.

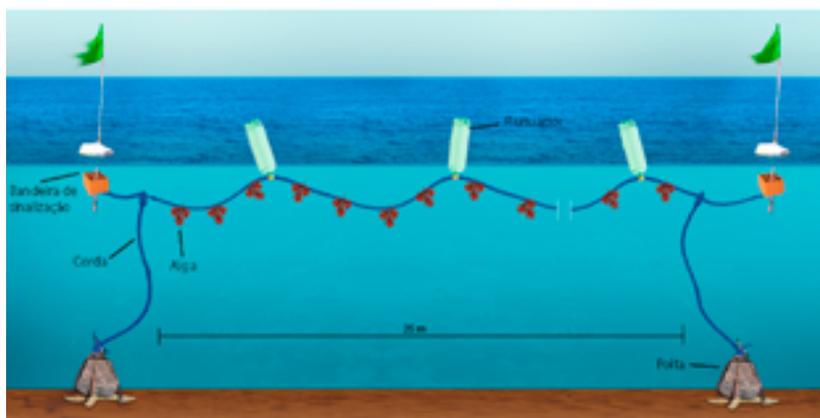


Figura 2. Esquema ilustrativo da implantação da estrutura de cultivo (tipo “long line”) utilizada no cultivo de algas marinhas na praia de Pau Amarelo.



Figura 3. Estruturas de cultivo de *G. birdiae* do tipo “long-line” na praia de Pau Amarelo-PE.



Figura 4. Integrantes do projeto de algas PROALGAS implantando as mudas da *G. birdiaenas* estruturas de cultivo.

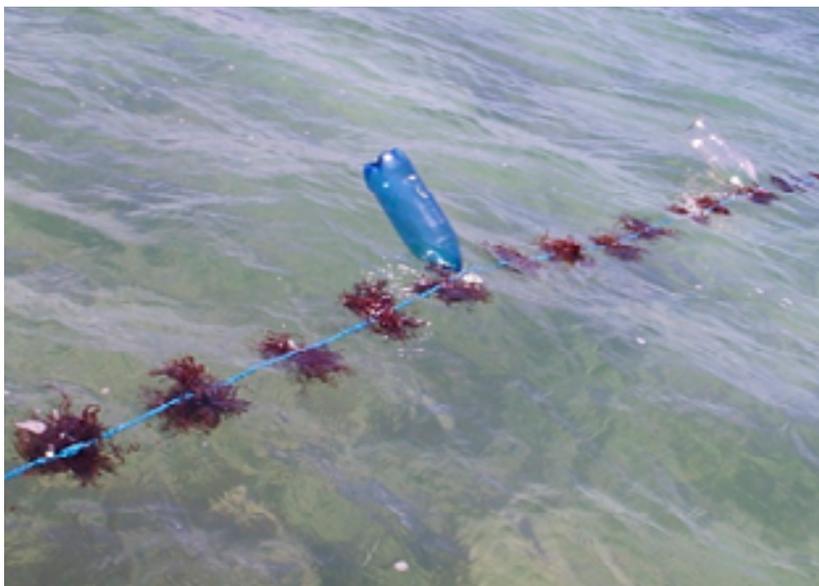


Figura 5. Estrutura de cultivo de *G. birdiae* com tempo de cultivo de 7 dias.



Figura 6. Estrutura de cultivo de *G. birdiae* com tempo de cultivo de 60 dias.

OBTENÇÃO DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS

Os parâmetros abióticos ambientais foram determinados quinzenalmente durante todo período experimental.

A salinidade (PSU), temperatura (°C), pH, condutividade (μs), oxigênio dissolvido (mgL^{-1}), oxigênio saturado (%) foram verificados através do equipamento multiparâmetro YSI modelo SS6MPS.

Para a análise dos nutrientes foram coletadas amostras de água do mar (250 mL) e armazenadas em frascos de polietileno. O material foi acondicionado em caixas isotérmicas com gelo e transportadas para o Laboratório de Limnologia do Departamento de Pesca e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Para determinação das concentrações dos nutrientes dissolvidos foram utilizados para o nitrato (NO_3^-) o método segundo Mackerett et al. (1978), para o nitrito (NO_2) o método segundo Golterman (1978), para o fósforo (PO_4^{2+}) segundo A.P.H.A. (1995), para amônia (NH_4^+) segundo Koroleff (1976), para clorofila-a e feofitina segundo Nush (1988) e turbidez .

Os dados climatológicos de precipitação pluviométrica, radiação solar e velocidade dos ventos foram fornecidos pelo Laboratório de Meteorologia de Pernambuco (LAMEPE) do Instituto de Tecnologia de Pernambuco (ITEP). Esses dados foram representados como média diária dos períodos dos cultivos.

PARÂMETROS DE CRESCIMENTO: BIOMASSA E TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO (TCR)

Para a estimativa da biomassa e determinação da Taxa de Crescimento Relativa (TCR), quinzenalmente foram pesadas 10 mudas de alga cultivada de cada corda. Para isso, as mudas foram retiradas de forma aleatória com auxílio de uma tesoura, colocadas em saco plástico com água do mar e transportadas para o local de apoio (Associação de pescadores da praia de Pau Amarelo). Em seguida, escorreu-se o excesso da água e pesou-se cada muda usando uma balança digital com precisão de 0,1 g. Dessa forma, a produção de biomassa e a Taxa de Crescimento Relativa foram estimadas por meio da média da produção das mudas em cada intervalo de tempo de cultivo.

A partir dos dados obtidos para cada muda (peso inicial e final, em gramas), calculou-se a Taxa de Crescimento Relativo (TCR, % . dia⁻¹), utilizando-se a seguinte fórmula descrita por De Casabianca et al., (1997):

$$\text{TCR (\% . dia}^{-1}\text{)} = \frac{\ln (\text{Pf-Pi}) \cdot 100}{(\text{Tf-Ti})}$$

Onde: Pi = peso inicial (g); Pf = peso final (g); Tf -Ti = intervalo de tempo entre as duas medidas de biomassa (g).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

VARIÁVEIS ABIÓTICAS

Os valores referentes aos parâmetros abióticos obtidos durante o cultivo experimental do presente estudo nos períodos seco e chuvoso podem ser

visualizados na Tabela 1. Dentre os parâmetros analisados ocorreram diferenças significativas ($p < 0,01$) apenas para a concentração de nitrato e turbidez. O período seco apresentou maiores valores na concentração de nitrato enquanto que, a turbidez foi menor (Tabela 1). Maiores valores de incidência de radiação solar foi observado no período seco (Figura 3A). A pluviosidade foi mais intensa e frequente no período chuvoso. Entretanto, duas chuvas atípicas (dias 53 e 60) foram constatadas no final do cultivo do período seco (Figura 3B). Esses fenômenos climáticos provavelmente exerceram influência para a maior produção da biomassa algal no período seco do cultivo experimental (Figura 4A).

Tabela 1. Variação, média, e desvio padrão dos parâmetros abióticos ambientais registrados no cultivo durante o período chuvoso e seco na praia de Pau Amarelo-PE

Parâmetros Ambientais	Período Chuvoso	Período Seco Média (\pm) desvio padrão
	Média (\pm)desvio padrão	
Oxigênio dissolvido (mg/L)	7,04 \pm 0,05	8,62 \pm 2,87
Oxigênio saturado (%)	109,44 \pm 3,45	136 \pm 47,5
Temperatura (°C)	27,9 \pm 0,61	28,8 \pm 1,97
Condutividade (μ /s)	51,15 \pm 0,05	50,82 \pm 0,85
pH	6,84 \pm 0,25	7,05 \pm 0,41
Salinidade (PSU)	34,6 \pm 0,33	33,2 \pm 0,24
Nitrato (μ g/L)	118,41 \pm 3,44	77,82 \pm 34,40
Nitrito (μ g/L)	7,69 \pm 1,02	4,48 \pm 2,99
Amônia (μ g/L)	16,43 \pm 12,92	9,38 \pm 9,14
Fosfato inorgânico (μ g/L)	16,70 \pm 2,81	17,99 \pm 5,38
Clorofila (μ g/L)	6,97 \pm 4,12	9,60 \pm 2,55
Feofitina (μ g/L)	4,16 \pm 0,89	4,32 \pm 2,55
Turbidez (NTU)	4,90 \pm 1,91	12,93 \pm 1,76

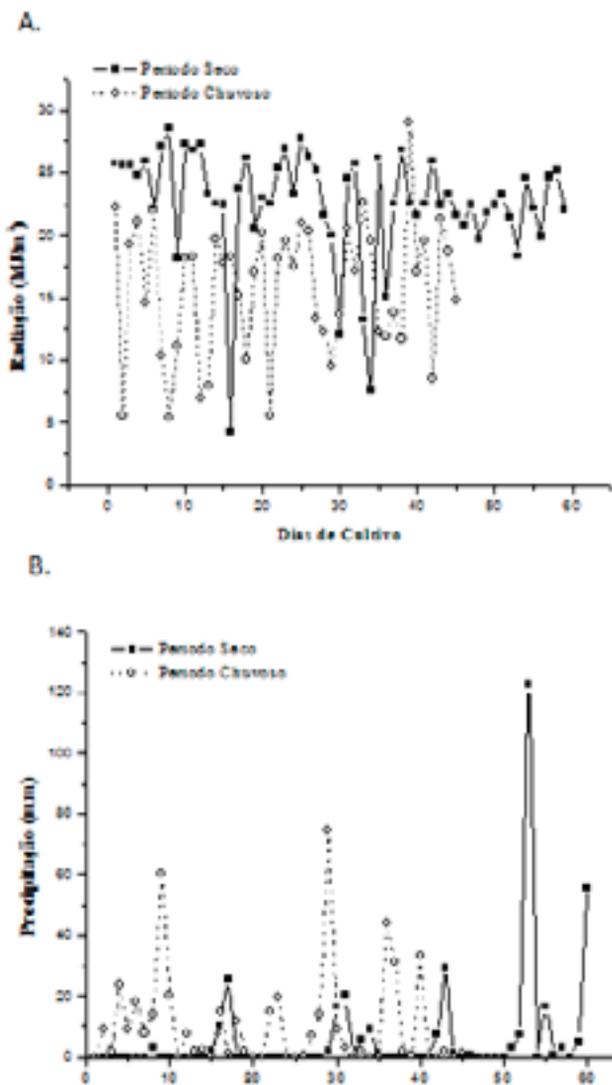


Figura 3. Radiação (A.) e precipitação (B.) durante os dias de cultivo da *G. birdiae* na praia de Pau Amarelo.

VARIAÇÃO DA BIOMASSA

A variação de biomassa total e quinzenal para os períodos seco e chuvoso estão apresentadas na Figura 1. Ao comparar a biomassa total produzida nos períodos seco e chuvoso, valores superiores ($p < 0,01$) foram observados para a estação seca (41,32 kg) em relação a chuvosa (13,36 kg) (Figura 4A). Com relação a variação de biomassa quinzenal, o crescimento de *G. birdiae* no período seco apresentou um padrão de linear durante os 60 dias de cultivo. No período chuvoso o mesmo foi observado até o trigésimo dia, a partir de então, observou-se uma interrupção no crescimento seguido de uma acentuada perda de biomassa, causada provavelmente pela fragilização e desprendimento das mudas nas estruturas de cultivo. Tal fato tornou, nas condições experimentais, inviável o cultivo após os trinta dias. Soriano (2005), estudou o cultivo de *Gracilaria* no Rio Grande do Norte e afirma que a alga atinge o tamanho comercial em 60 dias, alcançando uma média de 500 g por muda, a partir de um inóculo com peso aproximado de 50 g.

Existe uma dificuldade de se comparar os resultados de biomassa geral obtidos nesse estudo com os da literatura, devido principalmente as diferenças experimentais que vão desde diferentes formas de cultivo e espécies, forma de coleta dos dados, até diferentes tratamentos estatísticos. A partir dos resultados demonstrados na Figura 4B, pode-se observar que a *G. birdiae* cultivada na praia de Pau Amarelo no período seco e chuvoso atingiu uma biomassa média máxima de 269,59 g em 30 dias, havendo uma diferença significativa de biomassa no período seco com média máxima de 319 g no mesmo tempo de cultivo. Lelis (2006), encontrou uma média de biomassa por muda de *G. birdiae* cultivada no Ceará, em 30 dias de cultivo de 167,50 g, sendo dessa forma um resultado inferior em relação ao observado em Pau Amarelo, tanto no período chuvoso quanto no seco. Considerando que haja o dobro de safras em relação ao trabalho citado, podemos observar o alto potencial de cultivo de *G. birdiae* para área em estudo. Entretanto, foram utilizadas para implantação inicial mudas de 80 g para *G. birdiae*, enquanto que Soriano (2005) preferiu utilizar mudas iniciais com 50 g.

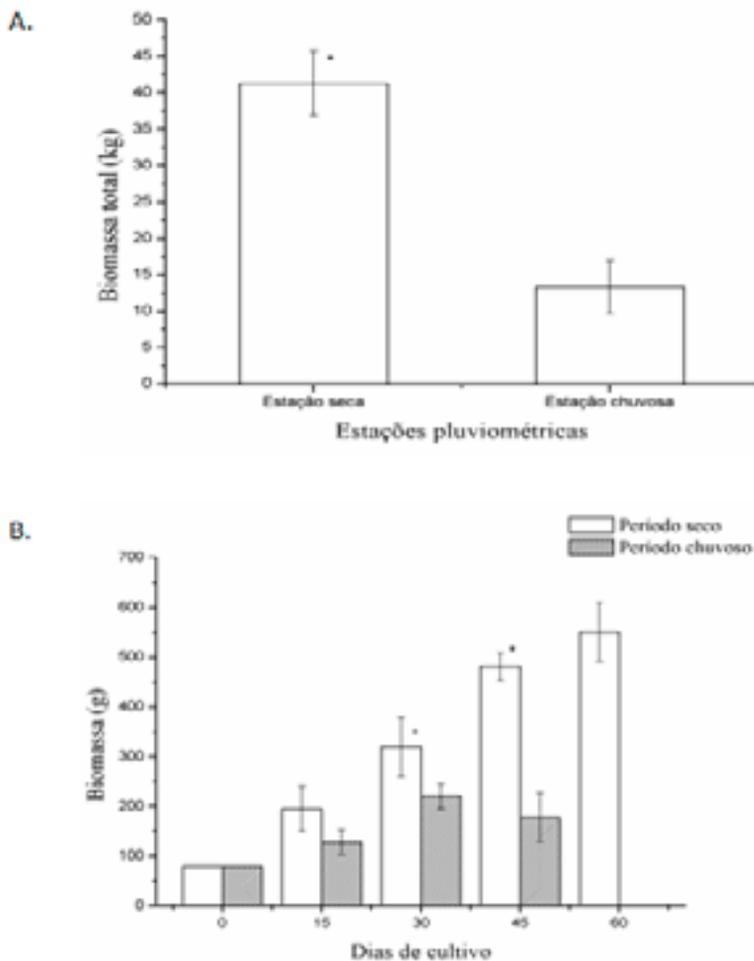


Figura 4. Variação da biomassa nos períodos seco e chuvoso: (A.) biomassa total, (B.) biomassa média quinzenal.

TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO (TCR)

Os valores de TCR médias encontrados para os períodos seco e chuvoso foram de 3,16 e 1,72 %/dia-1, respectivamente, sendo registrado diferença significativa entre os períodos ($t = 0,0011$).

Segundo McLachlan & Bird (1986), os cultivos do gênero *Gracilaria*, em diferentes condições variam geralmente entre 5 e 10% dia-1. Entretanto Lelis (2006) obteve no cultivo de *G. birdiae* no Ceará uma TCR média na melhor profundidade (20 cm) de 2,91% dia-1. Soriano et al. (2002) encontrou TCR máxima de 8,8% dia-1. Em relação aos resultados dos trabalhos analisados acima, o presente estudo obteve uma melhor TCR máxima encontrada (7,52 %dia-1) desta forma dentro da faixa citada por Mclachlan & Bird (1986) e próxima da encontrada por Soriano et al. (2002). Entretanto a TCR média encontrada no caso estudado foi inferior ao sugerido por Mclachlan & Bird (1986) para os cultivos do gênero *Gracilaria* em geral, porém é superior aos dados encontrados por Lelis (2006).

Ao correlacionar os dados de TCR e de biomassa é possível identificar a partir dos pontos das interseções entre as variáveis (setas indicada na Figura 5) os tempos de 30 e 33 dias demonstram que os valores onde o crescimento apresenta-se com maior biomassa e taxa de crescimento alta, sugerindo que esses valores são os melhores tempos de colheita da *G. birdiae* cultivadas nos períodos seco e chuvoso respectivamente.

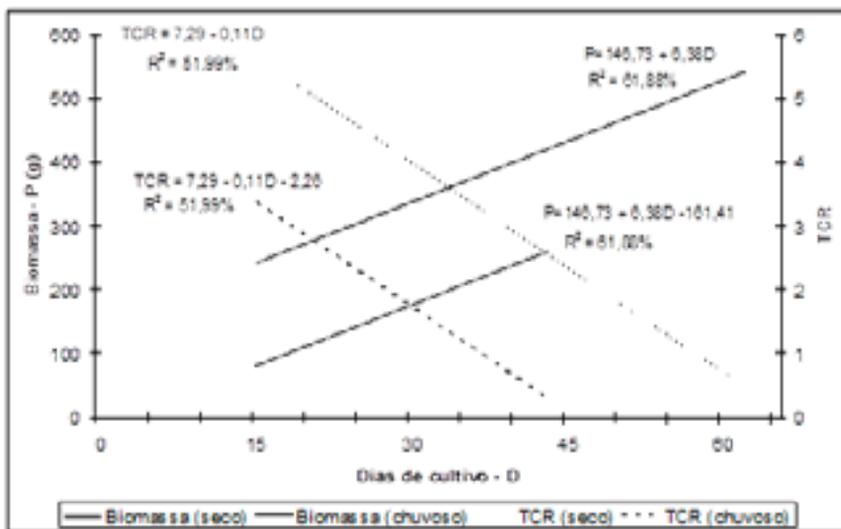


Figura 5. Interseções da TCR (%dia-1) e biomassa de *G. birdiae* do cultivo experimental na praia de Pau Amarelo-PE, nos períodos seco e chuvoso

CONCLUSÃO

A macroalga marinha *Gracilaria birdiae* cultivada em uma praia urbana no litoral de Pernambuco (Pau Amarelo) apresentou: Uma maior biomassa algal quando cultivadas no período seco e boas taxas de crescimento, com um tempo de colheita ideal de aproximadamente 30 dias no período chuvoso e 33 dias no seco.

4.6. POSSIBILIDADE DE APLICAÇÃO DO CULTIVO DE MACROALGAS NO ESTADO DE SERGIPE

Referindo-se ao cultivo de macroalga no Nordeste do Brasil, pode-se citar alguns Estados que tiveram tentativas de realizar o seu cultivo em escala comercial com intuito de fornecer matéria prima para diversas indústrias. No Ceará, cultivos com o Gênero *Gracilaria*, a mais de uma década se estabelece e até hoje é realidade no estado, porém, para se tornar um cultivo em escala comercial é necessário ainda mais investimentos e credibilidade no setor. No Rio Grande do Norte, em Rio do Fogo, também houve tentativas e estudos em cultivo de macroalgas, na Paraíba, atualmente pesquisadores estão estudando a possibilidade de cultivo já que o estado da apresenta bancos naturais de algas e como foi visto, houve um projeto piloto em PE, nas praias de Pau amarelo e Itamaracá. Todos esses estudos foram realizados pelo fato de que esses estados apresentam bancos naturais de algas locais, outros estados que poderiam acionar tentativas de cultivos, pelo fato de apresentar bancos naturais locais, seria o estado da Bahia e Alagoas. O estado de Sergipe não apresenta bancos naturais de algas pelo fato de apresentar grande turbidez da água por influência do rio São Francisco, essa mistura da água relacionada com a grande profundidade oferece fatores inadequados ao desenvolvimento desses bancos, mas, talvez para o cultivo, próximos à plataforma usando sistema de cultivos com estruturas flutuantes seja um bom caminho para o início dessa atividade de forma ambiental e até mesmo como fonte de matéria prima. A região onde se encontram as plataformas de petróleo podem ser uma importante alternativa para o cultivo, pois pode ofertar para esse tipo de cultivo hipoteticamente um padrão de crescimento adequado, retribuindo ao meio ambiente, ciclagem de nutriente, berçário para diversas espécies aquática e emissão de oxigênio.

Estudos nessa área devem persistir, uma vez que, as condições ambientais da água e o clima tropical do nosso país são favoráveis a esse tipo de cultivo.

4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLORIN, A. M. **Sistemática e Filogenia Molecular de Algas Gracilarióides (Gracilariaceae, Rhodophyta)**. São Paulo, 2002, 150p. Tese(Doutorado) - Universidade de São Paulo.

BERRIAUD, N.; MILAS, M.; CABRAL, T.M, 2003. **Avaliação do crescimento da agarófito Gracilaria domingensis no litoral do Rio Grande do Norte**. Fonte: [ttp://www.adaltech.com.br](http://www.adaltech.com.br)

BEZERRA, A. F. **Estudo experimental para mericultura de Gracilaria birdiae (Rhodophyta) no litoral do Rio Grande do Norte**. Natal, 2008, Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

CÂMARA-NETO, C. (1987). **Seaweed culture in Rio Grande do Norte, Brazil**. Hydrobiologia, v.151/152, 363-367.

CARVALHO FILHO, J. 2004. **Algas uma alternativa para as comunidades costeiras? Panorama da Aqüicultura** 14 (84): 53-56.

CRITCHLEY, A. T. **Introduction: Seaweed Resources**. In: Ohno, M. & Critchley, A. T. (eds). Seaweed cultivation and marine ranching. 2nd ed. Japan International Cooperation Agency. Yokosuka, Japan. 1997. 1-6p.

DARCY-VRILLON, B. (1993). **Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry**. International Journal of Food Science and Nutrition, 44,23-35.

DAWCZYNSKI, C., SCHUBERT, R. & JAHREIS, G. (2007). **Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products**. Food Chemistry, 103,891-899.

ENDRESS, H. U.; DÖSCHL-VOLLE, C.; DENGLER, K. **Rheological Methods to Characterize Pectins in Solutions and Gels**. In: VISSER, J.; VORAGEN, A. G. J.(Eds.), Progress in Biotechnology: Pectins and Pectinases. Amsterdam: Elsevier, 1996, v. 14, p. 407-423.

FAO (2008) **Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture.** Atlas. 5ª publicação. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura, 2008. p. 23.

ITO, K., & HORI, K. (1989). **Seaweed: Chemical composition and potential foods uses.** Food Reviews International, 5, 10 -144.

LÉPEZ, I.; WERLINGER, CAMILO; KLEMPAU, A.; SOBARZO, G. **Acuicultura: cultivo y producción de organismos acuáticos.** Werlinger, C. (ed.). **Biología Marina y Oceanografía: Conceptos y Processos.** Concepción., Universidad de Concepción. Trama Impressores S.A., Chile. Tomo II, 2004. p. 559-585.

LIMA, A. M.; CÂMARA-NETO, C.; OLIVEIRA, E. C. & ARAÚJO, R. A., 1981. **Cultivo experimental de Hypnea musciformis e Gracilaria sp. Em áreas protegidas por antigas linhas de costa (recifes) no litoral do Rio Grande do Norte.** In: Projeto Algas. Estado do Rio Grande do Norte. Série: Brasil. SUDENE. Estudos de pesca 9: 97-107.

MABEAU, S. J., & FLEURENCE, J. (1993). **Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects.** Trends in Food Science & Technology, 4, 103-107.

MACIEL, J. S.; CHAVES, L. S.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, D. I. A.; FREITAS, A. L. P.; FEITOSA, J. P. E PAULA, R. C. M. **Structural characterization of cold extracted fraction of soluble Sulfated polysaccharide from red seaweed Gracilaria birdiae, Carbohydrate Polymers ,2007, doi: 10.1016/j.carbpol.06.026.**

MARINHO-SORIANO, E. (1999). **Species composition of seaweeds in Buzios beach, Rio Grande do Norte, Brasil.** Seaweed Res. Utiln., v. 21, p.9-13.

MARINHO-SORIANO, E.; CARNEIRO, C. & MOREIRA, W. S. C. (2002). **Cultivation of Gracilaria (Rhodophyta) in Shrimp pond effluents in Brazil.** Aquac. Res. v. 33, p. 1081-1086.

MARINHO-SORIANO, E. **Cultivo Experimental de Gracilaria no Rio Grande do Norte.** Salvador. p. 115-124, 2005.

MARINHO-SORIANO, E.; MOREIRA, W. S. C.; CARNEIRO, M. A. A. (2006). **Some aspects of the growth of G. Birdiae (Gracilariales, Rhodophyta) in an estuary in Northeast Brazil.** *AquacultureInternacional*. v. 14 (4), p. 327-336.

MASIH-NETO, T. **Análise da Sustentabilidade do Cultivo de Macroalgas Marinhas Para o Litoral do Ceará.** Ceará, 2006, 31 p. Monografia (Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará.

MCHUGH, D. J. 2003. **A guide to seaweed industry.**FAO Fisheries Technical paper n° 441.Rome, 105 p.

MIRANDA, G. E. C.; BEZERRA, C. A. B. & TEIXEIRA, D. I. A. 2004. **Cultivo de algas marinhas.** Noções básicas. Brasília, Ed. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Abastecimento - FAO.

NAÉ, H. N. **Introduction of rheology.** In: LABA, D. (Ed.) *Rheological properties of cosmetics and toiletries.* New York: Marcel Dekker, 1993. p. 9.

NAVARRO, R.F.; **Fundamentos de reologia de polímeros.**Caxias do Sul, 1997, p. 9-11, 141-144.

OLIVEIRA, E. C. & AVEAL. K. **The mariculture of Gracilaria (Rhodophyta) for the production of agar.** In: AKATSUKA, I. (ed), *Introduction to Applies Phycology.* SBP Academic Publishing, The Hauge, 1990. p. 553-564.

OLIVEIRA, E. C. & PLASTINO, E. M. **Gracilariaceae.**In: AKATSUKA, I. (ed). *Biology of economic seaweeds.*SPB Academic Publishing, Netherlands. 1994. p.185-226.

OLIVEIRA, E.C. **Algas marinhas: Um recurso pouco explotável pelo Brasil.** *Panorama da Aqüicultura*, v. 7, p. 24–26, 1997.

OLIVEIRA, E. C. & MIRANDA, G. E. C. **Aspectos sociais e econômicos da exploração de algas marinhas no Brasil.** In: IV Congresso Latino-Americano, II Reunião Ibero-Americana , VII Reunião Brasileira de Ficologia, 1998, Caxambu, MG-Brasil. *Anais*, 1998. v. II, p. 149-156.

OLIVEIRA, E. C.; ALVEAL, K. & ANDERSON, R. (2000). **Mariculture of the agarproducing Gracilarioid red algae.***Reviews in Fisheries Science*8(4): 345-378.

OLIVEIRA, C. E. 2002. **Macroalgas Marinhas da Costa Brasileira-Estado do Conhecimento, Usos e Conservação Biológica**. Congresso Brasileiro de Botânica. Recife.

PLASTINO, E. M.; OLIVEIRA, E. C. (2002). **Gracilaria birdiae (Gracilariales, Rhodophyta), a new species from the tropical South American Atlantic with a terene frond and deep spermatangial conceptacles**. Phycology, Lawrence, v. 41, p. 389-396.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 248-259.

SCRHAMM, G.; **Reologia e Reometria. Fundamentos Teóricos e Práticos**. São Paulo: Artliber, 2006.

SOUTH, G. R.; WHITTICK, A. **Introduction to Phycology**. Oxford: Blackwell Scientific, 1987. 341 p.

TEIXEIRA, D. I. A.; BEZERRA, C. A. B.; MASIH NETO, T. **Cultivo Experimental da Alga Marinha Gracilaria cornea nas praias de Flecheiras e Guajiru-Ceará-Brasil Visando Recuperação de Estoques Naturais**. Anais do Congresso Brasileiro de Meio Ambiente, 2000.

TEIXEIRA, D. I. A.; BEZERRA, C. A. B.; CHAVES, R. V. O.; MASCH NETO, T & SOUSA, B. W. S 2002. **Cultivo da alga marinha Gracilaria sp. nas praias de Flecheiras e Guajiru-Ceará-Brasil**. In: IX Reunião Brasileira de Ficologia, Santa Cruz, Aracruz, Espírito Santo. Sociedade Brasileira de Ficologia e Fundação Ecossistemas do Espírito Santo. 2002, p. 95.

TEIXEIRA, D.I.A. & MASIH NETO, T. **Cultivo de Gracilaria em Flecheiras e Guajiru**. Anais da X Reunião da Sociedade Brasileira de Ficologia. Salvador, 2004.

TEIXEIRA, D. I. A.; COSTA, R. F. **Avaliação do crescimento de Gracilaria birdiae através de cultivo em mar aberto: replantando “vidas” em Icapuí-ce**. In: XII Congresso Brasileiro de Ficologia, 05-10, 2008, Águas Claras. Anais, 2008. v.único, CD-ROM.

VALIENTE, O.; FERNANDEZ, C. E.; PERAZ, R. M.; MARQUINA, G. ;VELEZ, H. (1992). **Ágar Polyssacharides from the red seaweeds Gracila-**

ria domingensis sonder ex kutzing and Gracilaria mammilaris (Montagner) Howe. *Botanica Marina*, 35: 77- 81.

VAN DEN HOEK, C.; MANN, D. G.; JAHNS, H. M. **Algae An introduction to Phycology.** Cambridge: Cambridge University Press, 1989. p. 627.

WYNNE, M. J. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: second revision. Berlin-Stuttgart: Nova Hedwigia, 2005. 152 p.



Mirela Assunção Simões -Possui graduação em Engenharia de Pesca pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2004) e mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2010). Professora efetiva do Instituto Federal de Sergipe. Tem experiência na área de Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, com ênfase em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, atuando principalmente nos seguintes temas: macroalga, cultivo, comunidades costeiras, sustentabilidade e carcinicultura.



Suzan Diniz Santos -Possui graduação em Engenharia de Pesca pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2002), mestrado em Bioquímica pela Universidade Federal de Pernambuco (2006), Doutorado em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia RENORBIO/UFPE (2011), Pós-Doutorado, Departamento de Bioquímica LABENZ/UFPE (2012), Pós-Doutorado, Departamento de Bioquímica GLICOPROTEÍNAS/UFPE (2013) e Pós-Doutoranda em Propriedade Intelectual na área de Biotecnologia UFPE/FACEPE (2014) e foi Profa. Substituta de Tecnologia do Pescado Unidade Penedo/UFAL (2013). Atualmente, é Profa. Substituta do Curso de Recursos Pesqueiros, Campos Estância/IFS e pesquisadora do Laboratório de Enzimologia LABENZ/UFPE. Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Carotenoides, atuando principalmente nos seguintes temas: aproveitamento de resíduos (aquicultura), processo de extração de carotenoides (camarão, macroalgas, microalgas), purificação por técnicas cromatográficas, antioxidantes, cultura de células, estresse oxidativo e Propriedade Intelectual (Patentes na área de Biotecnologia).



Danielli de Matias de Macedo Dantas -Possui graduação em Bacharelado Ciências Biológicas (2004) e mestrado em Recursos Pesqueiros e aqüicultura (2008) pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, doutorado em Ciências Biológicas na Universidade Federal de Pernambuco (2009 - 2013). Realizou doutorado sanduíche (CNPq) na University of California, San Diego, no período de Setembro de 2011 a Junho de 2012. Tem experiência na área de Aqüicultura, com ênfase em Produção de Microalgas. Cursos de aperfeiçoamento no Equador e Chile com carcinicultura e malacocultura respectivamente. Desenvolve trabalhos com produção e processamento de microalgas com fins biotecnológicos. Atualmente atuando como gestora ambiental em Plano Ambiental de Comunidades Indígenas.



Alfredo Olivera Gálvez -Biólogo, Possui Bacharelado em Biologia pela Universidad Ricardo Palma - Peru (1984), Licenciatura em Biologia pela Universidad Ricardo Palma - Peru (1985). Especialização em Bioestatística pela Universidad Peruana Cayetano Heredia - Peru (1985), Mestrado em Aqüicultura pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Brasil (1993), Doutorado em Biologia de organismos aquáticos e Aqüicultura pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP - Brasil (1998) e Pós Doutorado em Maricultura no Waddell Mariculture Center em South Carolina - USA (2009). Atualmente é Vice Diretor do Departamento de Pesca e Aqüicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE - Brasil. Professor Associado, pertence ao Programa de Pós graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura e ao curso de graduação em Engenharia de Pesca. Atua na área de Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, tendo experiência em: Sustentabilidade da maricultura, Cultivo e biotecnologia de algas, e Cultivo de moluscos junto a comunidades costeiras.