

## Verificação das potencialidades para produção de biocombustíveis a partir do cultivo da cianobactéria *Oscillatoria* sp.

Witter Duarte Guerra<sup>a</sup>, Karolynne Gomes Albuquerque<sup>b</sup>, Alexandre de Matos Martins<sup>c</sup>, Lucas Mateus da Rocha<sup>d</sup>, Anizio Marcio de Faria<sup>e</sup>, Antônio Carlos Batista Ferreira<sup>e</sup>.

<sup>a</sup>Docente do Departamento de Saúde da Faculdade Anhanguera – Campus Vinhedos, Uberlândia - MG. E-mail: witter\_guerra@yahoo.com.br

<sup>b</sup>Graduada em Ciências Biológicas pelo Instituto Luterano do Ensino Superior de Itumbiara – ILES/ULBRA. E-mail: karolynnekaal@gmail.com

<sup>c</sup>Doutorando em Biocombustíveis pelo programa de Pós-graduação em Biocombustíveis pela Universidade Federal dos Vales de Jequitinhonha e Mucuri – UFMG.

<sup>d</sup>Docente do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Pontal, Ituiutaba – MG. E-mail: lucasrocha@ufu.br

<sup>e</sup>Docente do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Pontal, Ituiutaba – MG. E-mail: anizio@ufu.br/ batistaacf@ufu.br

**Resumo:** Este estudo avaliou o potencial da cianobactéria *Oscillatoria* sp. para a produção de biocombustíveis através do cultivo. Os resultados revelaram que os ensaios 2, 3 e 4 apresentaram os maiores teores de lipídeos. A otimização das condições de cultivo, incluindo a variação de nutrientes, pode aumentar significativamente os teores de lipídeos, tornando a *Oscillatoria* sp. uma candidata promissora para a produção de biodiesel, mesmo realizando os testes em fase inicial, com as mesmas condições de cultivo. Pesquisas futuras devem focar no aprimoramento das técnicas de extração de óleo e na valorização dos coprodutos derivados da biomassa, visando a viabilidade econômica e a redução de impactos ambientais.

**Palavras-chave:** microalgas, lipídeos, biomassa, otimização.

### 1 - Introdução

O uso contínuo de combustíveis fósseis intensifica as emissões de gases de efeito estufa, resultando em graves consequências: derretimento de calotas polares, elevação do nível do mar, eventos climáticos extremos e alterações nos padrões sazonais. Estes impactos ameaçam comunidades, economias, ecossistemas, segurança alimentar, biodiversidade e qualidade de vida global (De Paula, Chagas & Mendonça, 2023).

A transição para energias limpas e renováveis, como solar, eólica, hidrelétrica e geotérmica, é crucial para reduzir a dependência de combustíveis fósseis e mitigar os impactos ambientais. Essa mudança impulsiona o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis, a

criação de empregos verdes e a construção de uma economia de baixo carbono (Guerra, 2019).

A crescente demanda global por biocombustíveis renováveis é impulsionada pela preocupação com as emissões de combustíveis fósseis. A necessidade de alternativas sustentáveis ao petróleo exige a busca e utilização de novas fontes renováveis (Silva *et al.*, 2019).

Biocombustíveis, derivados de fontes renováveis como biomassa vegetal e resíduos orgânicos, oferecem uma alternativa sustentável ao petróleo. Sua produção vertical e contínua reduz emissões de gases de efeito estufa e a dependência de recursos não renováveis (Oliveira, 2019).

Apesar de suas vantagens, a produção de biocombustíveis enfrenta desafios como a

necessidade de terras, o balanço energético e impactos socioeconômicos na agricultura. Com o avanço tecnológico e práticas sustentáveis, os biocombustíveis podem ser cruciais para um futuro energético limpo (Neves & Harder, 2021).

A produção de biocombustíveis a partir de microalgas e cianobactérias, que são microrganismos com alto potencial biotecnológico, surge como alternativa inovadora e sustentável. As microalgas e cianobactérias acumulam lipídios, proteínas, hidrocarbonetos e polissacarídeos, sendo matéria-prima para diversos biocombustíveis (Oliveira *et al.*, 2022).

As cianobactérias são microrganismos unicelulares, visíveis apenas sob microscópio, que podem formar colônias. Realizam fotossíntese com clorofila dispersa no citoplasma, diferentemente das plantas, onde a clorofila está nos cloroplastos (Perreira, 2020).

Perreira (2020) destaca a pesquisa em constante evolução sobre cianobactérias, especialmente *Oscillatoria* sp., com aplicações em biorremediação, biocombustíveis, alimentos, fertilizantes, cosméticos e biopolímeros.

Dessa forma, este estudo visa cultivar a cianobactéria *Oscillatoria* sp. para verificar as potencialidades da biomassa para produção de biocombustíveis.

## 2 - Material e Métodos

A produção de biomassa e lipídeos foi realizada utilizando-se um sistema de monocultura de *Oscillatoria* sp., os experimentos foram conduzidos nos laboratórios CT-Infra 2 e 3, pertencente ao curso de Ciências Biológicas do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Pontal, Ituiutaba-MG.

As cepas das cianobactérias empregadas na presente pesquisa foram obtidas por meio de cessão do Programa de Pós-graduação em

Biocombustíveis da Universidade Federal dos Vales de Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), situado em Diamantina-MG. O isolamento e a manutenção das cepas foram realizados nos laboratórios de Biocombustíveis e Green Chemistry (LABIOGREENC) e de Microscopia, Morfometria e Identificação (LAMMI), respectivamente.

As culturas de cianobactérias foram mantidas em sistema de cultivo sob fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, com controle da temperatura ambiente em  $25\text{ °C} \pm 1$ , com 5 cultivos, como mostra a Figura 1.

A cultura foi submetida a testes em meio ASM1 modificado (Hakalin, 2014), caracterizado pela ausência de vitaminas e pelo ajuste do pH.



**Figura 1** – Cultivo de cianobactérias em ambiente laboratorial.

O meio de cultura ASM1 modificado (Hakalin, 2014), foi preparado mediante a pesagem e subsequente adição dos componentes mais um litro de água destilada. Após a esterilização em frasco âmbar, alíquotas de 5 mL da solução foram adicionadas a cada litro de água para o cultivo. A inoculação da cultura de cianobactéria foi realizada na proporção de 20% de inóculo para 80% de meio, seguindo as metodologias descritas por Borges (2014) e Hakalin (2014).

Os cinco cultivos foram conduzidos sob as seguintes condições de cultivo: meio de cultivo ASM1, ausência de aeração, monocultura composta pela espécie de cianobactéria *Oscillatoria* sp., reatores de vidro boro 3.3 graduados, e período de cultivo de 21 dias. Dessa forma, como se tratam de testes iniciais, as condições de cultivo foram as mesmas.

Os testes foram realizados sob parâmetros previamente otimizados em estudos com monoculturas de microalgas como a *Scenedesmus* sp., *Chlorella* sp. e *Desmodesmus* sp. Contudo, a literatura científica revela uma escassez de pesquisas que abordem o cultivo em monocultura de cianobactérias para produção de biomassa e lipídeos para biocombustíveis.

O sistema de cultivo em escala laboratorial foi composto por cinco prateleiras uniformemente distribuídas, com iluminação provida por lâmpadas "luz do dia". As culturas, em frascos de vidro boro 3.3 com tampões de algodão, foram mantidas a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, utilizando lâmpadas fluorescentes brancas de 40W, em conformidade com Ramirez (2013) e Hakalin (2014).

Conforme evidenciado por Oliveira (2019) e Chiesa (2019), o parâmetro de cultivo ótimo é alcançado com inóculo de 20 a 21 dias de idade, fase de crescimento exponencial de biomassa e lipídeos. Após este período, o cultivo entra em fase estacionária, seguida por uma fase de declínio celular e lipídico, decorrente da possível utilização dos lipídeos intracelulares pelos microrganismos devido à limitação de nutrientes.

A presente pesquisa avalia o rendimento de lipídeos e biomassa seca de cianobactérias em sistema de monocultivo. Para tanto, a espécie *Oscillatoria* sp. foi cultivada em regime de batelada, sob condições laboratoriais rigorosamente controladas em termos de luminosidade e nutrientes, a fim de minimizar os riscos de contaminação.

Após a conclusão do período de cultivo, as amostras foram submetidas à centrifugação (7808g/min) para separação da biomassa, que foi coletada em béquer previamente tarado e seca em estufa ( $80^{\circ}\text{C}$ , 48h) para determinação da biomassa final, em consonância com os procedimentos descritos por Borges (2014), Chiesa (2019) e Oliveira (2019).

Em seguida, a biomassa das cianobactérias em um sistema de co-cultura foi submetida a um processo de maceração, como mostra a Figura 2.

A extração lipídica da biomassa seca foi conduzida segundo a metodologia de Folch, Lees e Stanley (1956). A biomassa macerada foi submetida à extração com clorofórmio/metanol, seguida de sonicação (90 min, 40 kHz) para ruptura celular e subsequente centrifugação.

Após os ciclos de centrifugação (8 min), o sobrenadante lipídico foi transferido para um béquer contendo solução de KCl. A mistura resultante foi agitada e submetida à separação em funil de separação. A fase lipídica foi lavada com solução metanol/água (1:1), filtrada com sulfato de magnésio e os solventes foram evaporados em balão volumétrico sob exaustão.



**Figura 2** – Biomassa seca macerada das cianobactérias.

Para determinar o teor de óleo final em porcentagem mássica foi adotada a Equação 1:

$$TL = \frac{MO \cdot 100}{MB} \quad (1)$$

O teor de lipídeos (TL) é definido como a porcentagem de lipídeos presentes na biomassa, a massa de óleo (MO) é expressa em gramas (g) e a massa de biomassa (MB) representa a quantidade de biomassa em gramas por litro (g/L) presente em 1 litro de meio de monocultura.

## Resultado e Discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados dos cinco ensaios experimentais, apresentando dados de biomassa seca e teor de lipídeos, calculados pela Equação 1. As análises permitiram a identificação das condições experimentais ótimas para o rendimento de óleo, fundamentais para a otimização de processos em escala industrial. Recomenda-se que pesquisas futuras concentrem-se no aprimoramento das técnicas de extração e no desenvolvimento de métodos eficazes para a valorização dos coprodutos derivados da biomassa.

**Tabela 1** – Resultados para o teor de lipídeos, quantidade de óleo produzido e biomassa para co-cultivo de cianobactérias

E.	B. S. (g/L)	Q. O. P. (g)	T. L. (%)
1	0,9818	0,0518	5,27
2	0,1843	0,0301	16,33
3	0,5054	0,1211	23,96
4	0,1945	0,0251	12,90
5	0,2578	0,0198	7,68

E.= ensaio. B. S. = biomassa seca. Q. O. P.= quantidade de óleo produzida por reator. T. L. = Teor de lipídeos extraído das células.

A análise dos dados experimentais demonstra que os ensaios com maior rendimento de biomassa não apresentaram os maiores teores de lipídeos, confirmando a relação inversa entre esses parâmetros. Tal observação está em

consonância com estudos prévios (Hakalin, 2014; Borges, 2014; Oliveira, 2019; Chiesa, 2019; Dias, 2019; Rós, 2022; Souza, 2018; Cordeiro, 2015), que investigaram a relação biomassa-lipídeos na produção de bio-óleo e outros biocombustíveis a partir de cianobactérias.

O planejamento experimental identificou os ensaios 2, 3 e 4 como aqueles que apresentaram os maiores teores de lipídeos, embora com baixa produção de biomassa seca. Tal observação sugere uma elevada proporção de lipídeos em relação à biomassa, tornando-os relevantes para aplicações que priorizam a produção de lipídeos. Recomenda-se a realização de pesquisas adicionais para otimizar as monoculturas de cianobactérias visando altos teores de lipídeos, considerando também parâmetros como produtividade, viabilidade econômica e potenciais efeitos adversos.

Conforme referenciado por Borges (2014) e Oliveira (2019), teores de lipídeos superiores a 10%, extraídos de microalgas, são considerados aceitáveis, especialmente quando há otimização nos processos de cultivo. Em cianobactérias, tais valores são considerados satisfatórios, embora seja necessário realizar ajustes para aprimorar a produção de biocombustíveis a partir desses microrganismos.

As pesquisas de Cordeiro (2015) e Souza (2018) demonstram a notável capacidade de armazenamento lipídico de diversas espécies de cianobactérias, qualificando-as como candidatas viáveis para a produção de biocombustíveis. Resultados comparáveis foram obtidos por outros autores, com teores de lipídeos de 11,10% para *Romeria gracilis*, 11,22% e 12,20% para *Mysosarcina* sp.

A otimização dos teores de lipídeos em microalgas e cianobactérias pode ser alcançada por meio de planejamentos experimentais que considerem condições de cultivo específicas e a variação na concentração de micro e

macronutrientes, conforme demonstrado por Souza (2018). Essa abordagem experimental possibilita o aumento controlado dos teores de lipídeos, fornecendo uma base para o aprimoramento da eficiência na produção de biocombustíveis a partir desses organismos.

#### 4 - Conclusões

Este estudo evidenciou o potencial da cianobactéria *Oscillatoria sp.* como uma fonte promissora para a produção de biocombustíveis. A otimização das condições de cultivo, incluindo a manipulação de nutrientes, revelou-se um fator crucial para impulsionar a produção de lipídeos, consolidando a *Oscillatoria sp.* como uma candidata promissora para a indústria de biocombustíveis.

Além disso, a necessidade de aprimorar as técnicas de extração de óleo e de valorizar os coprodutos da biomassa surge como uma prioridade para garantir a viabilidade econômica e a sustentabilidade ambiental da produção de biocombustíveis a partir de cianobactérias.

Para impulsionar o avanço nessa área, pesquisas futuras devem se concentrar em explorar diferentes condições de cultivo, desenvolver métodos de extração de óleo mais eficientes, investigar o potencial de utilização dos coprodutos da biomassa e realizar análises de viabilidade econômica e ambiental. O investimento contínuo em pesquisa e desenvolvimento é fundamental para transformar o potencial da *Oscillatoria sp.* em uma realidade, contribuindo para a transição para uma matriz energética mais limpa e renovável.

#### 5 - Agradecimentos

Os autores manifestam seu reconhecimento e agradecimento pelo suporte financeiro concedido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Fundação de Amparo à Pesquisa do

Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - código de financiamento 001.

#### 6 - Referências

Borges, Wesley da Silva. **Produção de bio-óleo empregando microalgas em diferentes meios de cultivo**. 2014. 100 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

Chiesa, Jaqueline Elise Garcia. **Avaliação dos efeitos causados pelas diferentes condições de cultivo nas microalgas *Scenedesmus sp.* e *Chlorella sp.* Mediante a potencialização de teor lipídico**. 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Biocombustíveis, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

Cordeiro, Raquel da Silva. **Cianobactérias isoladas de lagos naturais do Parque Estadual do Rio Doce-MG potencialmente produtoras de biocombustível**. 2015. 135 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

Folch, J.; Lees, M.; Sloane-Stanley, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 55, n. 5, p. 999–1033, 1956.

Guerra, Witter Duarte. **Avaliação do rendimento de biomassa e lipídeos empregando diferentes regimes de cultivo em *Scenedesmus* sp.** 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2019.

Hakalin, N. L. S. **Otimização das condições de cultivo da microalga *Scenedesmus* sp. para a produção de biodiesel.** Tese (Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular – Departamento de Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas), Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2014.

Neves, Thais Juliane; Harder, Marcia Nalesso Costa. **Diesel Verde: a nova era dos biocombustíveis em uma revisão.** Bioenergia em Revista: Diálogos, Sl, v. 11, n. 2, p. 91-112, 01 dez. 2021. Disponível em: <http://fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/443/373816>. Acesso em: 15 jan. 2022.

Oliveira, Flávia Costa. **Otimização de produção de biomassa para extração lipídica utilizando estirpes da microalga *Scenedesmus* sp.** 2019. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Biocombustíveis, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2019.

Oliveira, Flávia Costa; Guerra, Witter Duarte; Chiesa, Jaqueline Elise Garcia; Dias, Isabela de Souza; Vieira, Andressa Tironi; Borges, Wesley da Silva; FARIA, Anizio Marcio de; Batista, Antônio Carlos Ferreira. Otimização de produção de biomassa para extração lipídica utilizando estirpes da microalga *Scenedesmus*. *Research, Society And Development*, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-17, 2 jan. 2022. **Research, Society and**

**Development.** <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i1.24494>.

PEREIRA, Francisco Sávio Gomes. **Microrganismos: classificação e características.** Recife: IF, 2020. 36 p. (1). Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/339747666\\_Microorganisms\\_classification\\_and\\_characteristicsIn\\_Portuguese\\_Microrganismos\\_classificacao\\_e\\_caracteriticas](https://www.researchgate.net/publication/339747666_Microorganisms_classification_and_characteristicsIn_Portuguese_Microrganismos_classificacao_e_caracteriticas). Acesso em: 23 jan. 2022.

RAMIREZ, N. N. V. **Estudo do crescimento da microalga *Scenedesmus* sp. em vinhaça.** [s.l.] Dissertação (Mestrado em Engenharia: Departamento de Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.

RÓS, Patrícia Caroline Molgero da. **Avaliação de óleos de cianobactérias como matérias primas lipídicas para síntese de biodiesel pela rota etílica.** 2012. 172 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2012.

Silva, Gabriel Cortez da; Santos, Andressa Júlia Figueiredo dos; BREDDA, Eduardo Henrique; RÓS, Patrícia Caroline Molgero da. Otimização das condições de cultivo da microalga *Nannochloropsis gaditana* e caracterização do óleo obtido. **Brazilian Journal Of Development**, Curitiba, v. 6, n. 5, p. 4765-4773, 04 abr. 2019. <https://doi.org/10.34117/bjdv5n6-1672>

Silva, Kaio Santana da; PASSOS, Gabriel Nascimento; Carvalho, Gabrielle de Oliveira; FIGUEIREDO, Ângela Vitória de Araújo; Silva, Mauro Gomes da. Tipos de Combustíveis. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, [S.L.], v. 8, n. 6, p. 1439-1454, 30 jun. 2022d. **Revista Ibero-Americana de**

**4º WORKSHOP DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCOMBUSTÍVEIS**  
**UFVJM-UFU**

**Humanidades, Ciências e Educação.**

<http://dx.doi.org/10.51891/rease.v8i6.6075>.

Souza, Wallace Rafael de. **Potencial de cianobactérias cultivadas em meio suplementado com vinhaça para produção de biodiesel**. 2018. 123 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Ciências, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.