
**EFEITOS DA CARGA NUTRICIONAL DO MEIO DE CULTIVO DA MICROALGA
Desmodesmus sp. NO TEOR LIPÍDICO**

TAINÁ MICHELLE DA CRUZ^{1*}, DANIELA ESTELITA GOES TRIGUEROS², APARECIDO NIVALDO MÓDENES², VANESSA DANELUZ GONÇALVES³, TAYSA DE SOUZA BRANIZ²

¹Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá

²Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná

³Departamento de Meio Ambiente, Universidade Estadual de Maringá

*e-mail: cruz.ttaina@gmail.com

RESUMO - Neste trabalho foram estudadas alterações nos macronutrientes para melhorar o rendimento de lipídeos da microalga *Desmodesmus* sp.. Um grupo de fotobiorreatores tubulares de 500 ml, sob iluminação de luzes monocromáticas baseadas em led de cor vermelha, foi utilizado para induzir melhor rendimento lipídico, devido a alterações nos macronutrientes nitrato de sódio e fosfato de potássio. Além disso, o efeito das alterações dos macronutrientes foi avaliado em um planejamento fatorial 3². A diminuição das quantidades de nitrato de sódio e fosfato de potássio com iluminância baseada em luz vermelha permitiu a obtenção dos maiores rendimentos lipídicos em contraste com uma baixa concentração de biomassa.

INTRODUÇÃO

O planeta atualmente se encontra com 8 bilhões de pessoas e há uma estimativa que esse número atinja a marca de 9,7 bilhões em 2050 (Williamson *et al.* 2023). Esse aumento populacional afeta diretamente as demandas energéticas e alimentares, podendo causar o esgotamento das reservas naturais e excessiva emissão de gases causadores do efeito estufa. No ano de 2020, uma porcentagem considerável da energia mundial era proveniente de fontes não renováveis, sendo os setores de transporte, indústria e consumo doméstico os principais emissores dos gases dióxido de carbono e metano (Rame *et al.* 2023).

Diante da necessidade de um mundo mais igualitário e sustentável, a Organização das Nações Unidas (ONU) propôs Os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), que têm como foco a melhoria de vida e proteção do meio ambiente e clima, a nível global. Diversas estratégias estão sendo

empregadas para erradicar a fome, tornar as cidades mais sustentáveis e aumentar o uso de energias limpas, por exemplo.

As microalgas são organismos fotossintéticos e o seu cultivo se encaixa no Objetivo das energias sustentáveis, se destacando por sua alta capacidade de fixação de carbono e maior eficiência de fotoconversão da luz solar quando comparadas as fontes vegetais terrestres, possível cultivo em terras improdutivas, despoluição de águas e aproveitamento da biomassa para diversos bioprodutos (Vuppaladadiyam *et al.* 2018; Yin *et al.*, 2020).

Os bioprodutos são metabólitos responsáveis pela manutenção celular que incluem carboidratos, proteínas, lipídeos e pigmentos que podem ser utilizados nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de biocombustíveis (Gargouch *et al.* 2018; Weiss; Schebek, 2020). Em ambientes de estresse, as microalgas podem sofrer modificações fisiológicas que as levam a alterar a composição de sua biomassa e do seu conteúdo

metabólico. Tal característica substancial tem sido utilizada em muitos estudos que se destinam ao aumento de um ou mais metabólitos de interesse para suas respectivas aplicações (Yap *et al.* 2021).

Abordagens de estresse nutricional celular são normalmente empregadas na tentativa de aumentar a concentração de bioprodutos, como a repleção/depleção envolvendo nitrogênio e fósforo. Um estudo conduzido por Chu *et al.* (2014) demonstrou que a limitação de nitrogênio juntamente com o fornecimento suficiente de fósforo estimulou a produção de óleo em *Scenedesmus obliquus*. A *Desmodesmus* sp. se destaca como uma microalga oleaginosa, apresentando uma das maiores taxas de produtividade lipídica registradas na literatura, atingindo 302 mg L⁻¹ por dia em condições otimizadas (Ho *et al.* 2014). Ao cultivarem *Desmodesmus*, Pan *et al.* (2011) constataram uma produtividade de 16% de conteúdo lipídico na massa seca em condições normais de cultivo, e após 7 dias de privação de nitrogênio, o conteúdo lipídico aumentou para mais de 50%.

Considerando a potencialidade de aplicações, para que as microalgas atendam as necessidades das demandas mundiais, é importante maximizar o conteúdo de seus bioprodutos. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o cultivo da microalga *Desmodesmus* sp., com base num planejamento fatorial 3², onde foram realizadas alterações nas quantidades dos macronutrientes nitrato de sódio (NaNO₃) e fosfato de potássio (K₂HPO₄) a fim de se obter uma melhoria no rendimento lipídico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Engenharia de Bioprocessos – LEB e no Laboratório de Controle e Poluição – LCP do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), no campus de Toledo – PR.

Cepa e meio de cultivo

A microalga *Desmodesmus* sp. foi isolada e identificada por Schuelter *et al.* (2019) por meio de microscopia óptica e

sequências de fragmentos genéticos. A composição do meio mineral BG-11 está apresentada na Tabela 1. É um meio muito utilizado para o desenvolvimento de algas tanto em atmosfera natural ou enriquecida com CO₂ e foi escolhido para o cultivo de *Desmodesmus* sp. após apresentar reposta satisfatória para o crescimento da microalga.

Tabela 1: Composição do meio mineral BG-11

Soluções de macronutrientes	Solução Estoque (g 200 mL ⁻¹ de H ₂ O)
NaNO ₃	30,0
K ₂ HPO ₄	0,8
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,5
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,72
Ácido Cítrico.H ₂ O	0,12
Citrato de Ferro e Amônio	0,12
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0,02
Na ₂ CO ₃	0,4
Soluções de micronutrientes	Concentração (µg L ⁻¹)
H ₃ BO ₃	2860
MnCl ₂ .4H ₂ O	1810
ZnSO ₄ .7H ₂ O	222
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	390
CuSO ₄ .5H ₂ O	79
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	49,4

Fonte: UTEX (2023).

Fotobiorreator tubular vertical irradiado por LED

A *Desmodesmus* sp. foi cultivada durante dezesseis dias no módulo experimental ilustrado na Figura 1. A estrutura do módulo irradiado por LED é composta por um sistema de injeção de ar e CO₂, quatro câmaras com capacidade de acomodação para até doze provetas de 500 mL e dezesseis lâmpadas de LED cada. Testes realizados anteriormente apontaram a luz vermelha como a melhor indutora de rendimento lipídico, de modo que,

os cultivos realizados sob alterações de cargas nutricionais ocorreram neste espectro de luz.

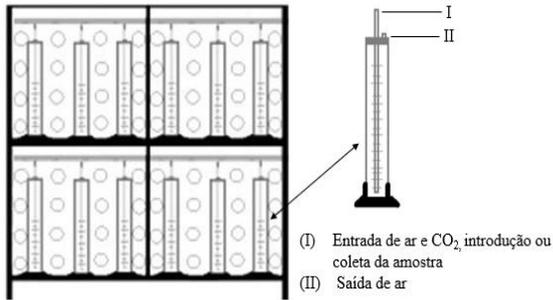


Figura 1: Ilustração do módulo experimental irradiado por LED utilizado para o cultivo de *Desmodesmus* sp.

Concentração de Biomassa

A concentração de biomassa foi determinada por um fator de correlação entre a concentração de biomassa e a sua respectiva densidade óptica, sendo este fator utilizado para converter a densidade óptica em concentração de peso seco celular (Wagner *et al.* 2016). A concentração foi obtida por análise de regressão entre a biomassa e leitura óptica em 687 nm ($DO_{687} \approx 0,252 \text{ g L}^{-1}$) em espectrofotômetro UV-VIS (PerkinElmer, modelo Lambda 35). A determinação da biomassa em peso seco foi realizada em triplicata de acordo com o método gravimétrico descrito em Apha (1999) modificado, sendo determinada pela Equação 1. Para isto, aferiu-se em balança analítica (Shimadzu), a massa (M_0) do microfiltro de fibra de vidro GF6 (Macherey-Nagel, 6 μm de porosidade) que foi previamente seco em estufa de esterilização e secagem (New Lab). Filtrou-se 10 mL da cultura de microalga e o microfiltro contendo a massa celular foi novamente seco em estufa a 105 °C até peso constante e armazenado em dessecador por 30 min, tendo, posteriormente, sua massa aferida (M_f).

$$B = \frac{M_f - M_0}{V} \cdot 1000 \quad (1)$$

sendo B a concentração de biomassa (g L^{-1}); M_0 e M_f (g) a massa inicial e final do filtro, respectivamente e V o volume de amostra filtrado (L).

Extração e quantificação do teor de lipídeos

Para mensurar o teor lipídico, utilizou-se a metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959), modificada por Chen *et al.* (2012). Os ensaios consistiram na pesagem de 0,1g de amostra de microalga seca (X), misturada a 5 mL de clorofórmio/metanol (1:2, v/v) que permaneceu sob agitação a 65 °C por 1 hora em incubadora *shaker* com agitação orbital refrigerada (SL – 221 (SOLAB)). A mistura foi centrifugada a 3500 rpm por 5 min. Coletou-se o sobrenadante e a biomassa residual foi centrifugada mais duas vezes e juntou-se as três alíquotas de sobrenadante. Adicionou-se clorofórmio e solução de cloreto de sódio 1% de modo que o volume final resultasse na proporção 1:1:0,9 (clorofórmio/metanol/cloreto de sódio). A solução permaneceu em repouso até separar as fases e então foi transferida para um recipiente de massa conhecida (P1). As amostras foram secas em estufa a 60 °C até peso constante tendo o recipiente novamente sua massa aferida (P2), e o teor de lipídeos foi determinado pela diferença de massa entre P2 e P1 relacionado a quantidade de biomassa seca utilizada para a extração. O teor total de lipídeos foi calculado como uma porcentagem do peso seco das microalgas, como mostra a Equação 2:

$$\text{Teor de lipídeos} = \frac{(P2 - P1)}{X} \cdot 100 \quad (2)$$

sendo P1 a massa do recipiente vazio (g); P2 a massa do recipiente com a amostra após secagem (g) e X a quantidade de biomassa seca utilizada (g).

Avaliação de diferentes concentrações dos macronutrientes nitrato de sódio e fosfato de potássio

Dentre os macronutrientes do meio mineral BG-11, NaNO_3 e K_2HPO_4 são variáveis principais que poderiam, hipoteticamente, influenciar nas mudanças de produção de subprodutos. Nesse sentido, construiu-se um planejamento experimental fatorial 3^2 para avaliar os efeitos de diferentes concentrações de macronutrientes sobre a biossíntese de bioprodutos de *Desmodesmus* sp.. Investigou-se a influência das variáveis

independentes NaNO_3 K_2HPO_4 em diferentes níveis: superior (+1), médio (0) e inferior (-1) sobre a variável dependente lipídeos. Os valores das variáveis independentes estão apresentados na Tabela 2 e foram definidos por testes preliminares, tendo como referencial utilizado para determinação dos níveis a composição do meio mineral BG-11 (Tabela 1), de modo que, o nível zero foi sua formulação original, e os níveis superiores e inferiores foram variações dessa formulação.

Tabela 2: Concentrações das variáveis independentes estudadas e níveis de variação

	Nível (-1)	Nível (0)	Nível (+1)
Variáveis	Solução Estoque (g 200 mL⁻¹ de H₂O)	Solução Estoque (g 200 mL⁻¹ de H₂O)	Solução Estoque (g 200 mL⁻¹ de H₂O)
(NaNO_3)	5	30	55
(K_2HPO_4)	0,2	0,8	1,4

Os planejamentos foram definidos por doze experimentos executados de forma aleatória, onde as duas variáveis independentes variaram em um fatorial 3^2 , sendo três experimentos realizados no ponto central, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3: Matriz do planejamento experimental fatorial 3^2

Experimento	Variáveis	
	N	F
1	-1	-1
2	-1	0
3	-1	+1
4	0	-1
5	0	0
6	0	+1
7	+1	-1
8	+1	0
9	+1	+1
10 (PC)	0	0
11 (PC)	0	0
12 (PC)	0	0

Nota: N - Nitrato de sódio (NaNO_3); F - Fosfato de potássio (K_2HPO_4); Ponto Central (PC).

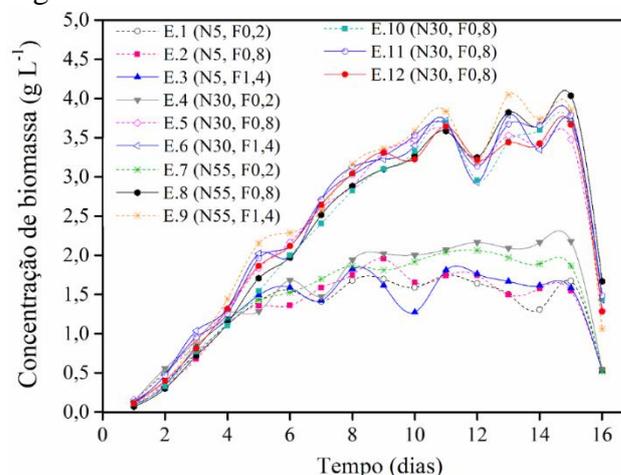
A significância estatística do modelo ajustado aos dados experimentais foi avaliada com o auxílio do *Software Statistica* pelo teste F ao nível de 10%. A qualidade do ajuste foi verificada pelo coeficiente de determinação (R^2), pelo coeficiente de determinação

ajustado ($R^2_{\text{ajust.}}$) e pela análise gráfica dos resíduos: distribuição da probabilidade normal dos resíduos; resíduos em função dos valores preditos; valores observados em função dos valores preditos e resíduos em função do número do ensaio experimental. Os doze experimentos foram realizados no módulo experimental irradiado por LED vermelho, em reatores de 500 mL durante dezesseis dias sob iluminação de $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pH inicial de 7,7, temperatura de $27 \text{ }^\circ\text{C}$ e bombeamento de ar enriquecido com 3% de CO_2 a uma vazão de $1,4 \text{ L min}^{-1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Concentração de biomassa

Em geral, os experimentos (E) limitados nutricionalmente por nitrato de sódio (N) e fosfato de potássio (F) apresentaram menor concentração de biomassa quando comparados aos experimentos realizados em condições repletas destes nutrientes ou em formulações originais do meio mineral BG-11. A concentração de biomassa estimada diariamente a partir da densidade óptica durante dezesseis dias está apresentada na Figura 2.



Nota: Entre parênteses estão apresentadas as quantidades (g) de nitrato de sódio (N) e fosfato de potássio (F) usadas em cada experimento.

Figura 2: Concentração de biomassa de *Desmodesmus* sp. com diferentes cargas nutricionais

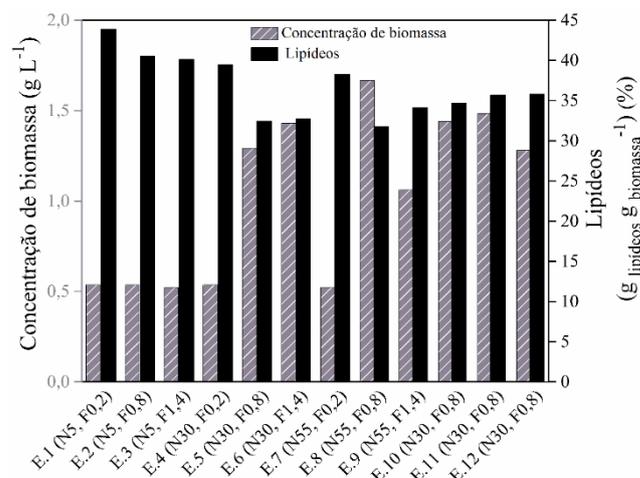
Pancha *et al.* (2014), cultivaram *Scenedesmus* sp. CCNM 1077 e constataram redução de 30% do teor de biomassa após 9 dias de privação de nitrato em comparação com o controle ($32,01 \text{ mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$), indicando que a falta de nitrogênio retardou a atividade

metabólica e a divisão celular por parte da microalga. Goiris *et al.*, (2015), também observaram este efeito no rendimento final de biomassa em culturas de *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica* e *Chlorella vulgaris*. Na cultura de *P. tricornutum* houve queda na quantidade celular devido a limitação de nitrogênio e fósforo; na cultura de *T. suecica* o volume celular diminuiu em resposta a limitação de ambos os elementos, entretanto, a quantidade celular não foi afetada; para a cultura de *C. vulgaris*, a limitação de fósforo ocasionou redução da quantidade de células, enquanto a limitação de nitrogênio resultou em diminuições na quantidade e no volume celular.

Teor lipídico

Células mantidas sob limitação de nitrogênio extracelular tem a quantidade de triacilgliceróis (TAGs) aumentada, todavia, essa limitação ocasiona interrupção no crescimento celular, de modo que, o aumento da biomassa passa a depender do acúmulo de reservas intracelulares de nitrogênio (Johnson; Alric, 2013). O fósforo se divide nas células microalgais de diferentes formas, por exemplo, o polifosfato auxilia no crescimento celular quando o meio fica desprovido de fósforo, atuando como um elemento reserva e de fonte de energia. A biomassa utilizada na análise de lipídeos foi coletada no décimo sexto dia de cultivo e ao analisar a Figura 3 é possível verificar que o maior rendimento lipídico pertenceu ao Experimento 1 (E.1 – N5, F0,2) atingindo 43,86%, cuja formulação do meio se constituiu dos níveis inferiores de N e F. Chu *et al.* (2014) conduziram um estudo com *Scenedesmus obliquus* avaliando o efeito do fósforo na produção de óleo em condições de estresse por deficiência de nitrogênio; a produtividade lipídica de *S. obliquus* na condição de nitrogênio deficiente e fósforo suficiente duplicou em comparação com níveis suficientes de ambos os nutrientes, atingindo 24,2 mgL⁻¹d⁻¹. Pozzobon *et al.* (2020) cultivaram *Desmodesmus* sp. em meio B3N e identificaram os ácidos oleico e linoleico como sendo os lipídeos de armazenamento desta

cepa, pois, a deficiência de nitrogênio favoreceu suas produções.



Nota: Entre parênteses estão apresentadas as quantidades (g) de nitrato de sódio (N) e fosfato de potássio (F) usadas em cada experimento.

Figura 3: Concentração de biomassa e rendimento lipídico de *Desmodesmus* sp. no décimo sexto dia de cultivo para os doze experimentos realizados

Efeitos da composição do meio de cultivo sobre a produção de lipídeos

Os efeitos das variações nas concentrações de nitrato de sódio (N) e fosfato de potássio (F) no meio BG-11 em relação a produção de lipídeos foram estimados ao nível de 10%, levando em consideração a produção lipídica de *Desmodesmus* sp. no décimo sexto dia de cultivo. A representatividade dos efeitos significativos (p-valor <0,1) dentro da região experimental foi averiguada pela análise de variância – ANOVA. A relevância dos efeitos significativos (p-valor <0,1) é apresentada na Figura 4 pelo gráfico de Pareto, apontando que as variações das concentrações dos elementos nutricionais realizadas no presente estudo mostraram-se favoráveis para a produção de lipídeos da microalga *Desmodesmus* sp.. Nota-se que o fator nitrato de sódio linear ((1)N(L)) foi o que apresentou maior interferência, seguido pelo fator fosfato de potássio linear ((2)F(L)), indicando que as concentrações de ambos os nutrientes devem ser diminuídas.

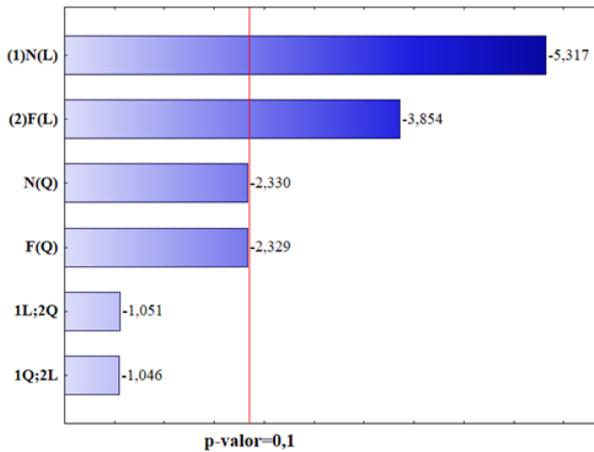


Figura 4: Pareto dos efeitos linear (L), quadrático (Q) e de interações (L;Q) das variáveis N e F sobre o rendimento lipídico da microalga *Desmodesmus* sp.

A Tabela 4 apresenta a análise de variância (ANOVA) aplicada às fontes de variação e ajuste do modelo aos dados experimentais, o nitrato de sódio foi o maior responsável pelo aumento do rendimento lipídico de acordo com o valor da soma dos quadrados (SQ \approx 68), seguido pelo fosfato de potássio (SQ \approx 36).

Tabela 1 – ANOVA dos fatores de variação e do modelo de regressão ajustado aos dados de rendimento lipídico obtidos no cultivo de *Desmodesmus* sp.

Fator	G.L	SQ	QM	F _{calc}	p-valor
(1)N(L)	1	68,42	68,42	28,27	0,01
N(Q)	1	13,14	13,14	5,43	0,10
(2)F(L)	1	35,94	35,94	14,85	0,03
F(Q)	1	13,12	13,12	5,42	0,10
1L;2Q	1	2,67	2,67	1,10	0,37
1Q;2L	1	2,65	2,65	1,09	0,37
Regressão	6	135,97	22,66	12,67	0
Falta de ajuste	2	1,68	0,84	0,34	0,73
Erro puro	3	7,25	2,41	-	-
Resíduo	5	8,94	1,78	-	-
Total	11	144,91	-	-	-

G.L: grau de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: soma de quadrados médios; F_{calc}: F calculado; L: linear; Q: quadrático.

Durante o processo de ajuste do modelo de regressão, alguns efeitos não significativos (p-valor $< 0,1$) foram excluídos conforme o critério de melhor coeficiente de determinação

ajustado ($R^2_{ajust.}$), porém, alguns efeitos não significativos permaneceram, pois foram fundamentais para descrever o processo. Considerou-se apenas as simulações que atendiam aos pressupostos: normalidade, homoscedasticidade, independência e aleatoriedade dos resíduos para a avaliação da qualidade do ajuste, considerando a boa correlação entre os valores preditos e observados, de acordo com o coeficiente de determinação (R^2).

O rendimento lipídico de *Desmodesmus* sp. pode ser estimado pela Equação 3.

$$Y_{Lipídeos (\%)} = 48,94 - 0,34x_1 - 14,25x_2 + 6,32x_2^2 \quad (3)$$

O modelo de regressão foi validado pelo teste F ($F_{calc} = 12,67$) ao nível de 10%. Pela distribuição de F, o modelo apresentou representatividade estatística significativa (p-valor $\approx 0,006$), segundo os graus de liberdade da regressão e do resíduo do ajuste ($F_{tab}(90\%;6;5) = 3,40$). A variabilidade experimental do rendimento lipídico obtida no décimo sexto dia de cultivo foi bem representada pelo modelo ($R^2_{ajust.} = 0,87$). A variabilidade dos dados lipídicos que não pôde ser explicada pela regressão foi $< 1\%$, apresentando falta de ajuste não significativo (p-valor $\approx 0,731$). De acordo com os dados obtidos no planejamento, o erro devido às flutuações aleatórias representou 8,29% (erro puro = 2,41).

O contorno de resposta ilustrado na Figura 5 foi simulado pelo ajuste do modelo de regressão (Equação 3) variando-se as concentrações de N e F dentro da faixa de experimentação do planejamento experimental fatorial 3^2 . O maior rendimento lipídico da microalga *Desmodesmus* sp. nas condições experimentais realizadas, é predito em meio BG-11 com aproximadamente 2 g de N e aproximadamente 0,05 g de F.

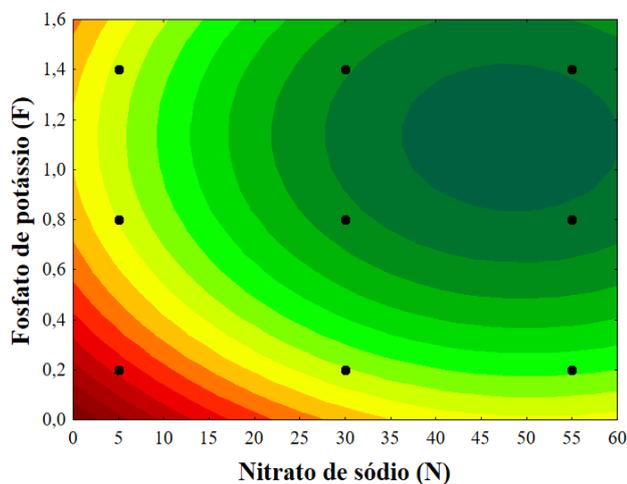


Figura 5: Contorno da resposta rendimento lipídico (%) de *Desmodesmus* sp. obtida por meio das variações de nitrato de sódio e fosfato de potássio

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A microalga *Desmodesmus* sp. foi avaliada quanto ao seu crescimento em biomassa e produção de lipídeos a partir do seu cultivo em meio mineral BG-11 por dezesseis dias em diferentes concentrações e combinações dos macronutrientes nitrato de sódio e fosfato de potássio. Os resultados deste estudo apontam que as alterações na composição do meio causaram uma forte disposição para produzir lipídeos sob uma acentuada falta de macronutrientes.

REFERÊNCIAS

- APHA (1999) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington DC.
- CHEN, Lin; LIU, Tianzhong; ZHANG, Wei; CHEN, Xiaolin; WANG, Junfeng. Biodiesel production from algae oil high in free fatty acids by two-step catalytic conversion. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 111, p. 208-214, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.033>.
- CHU, Fei-Fei; CHU, Pei-Na; SHEN, Xiao-Fei; LAM, Paul K.s.; ZENG, Raymond J.. Effect of phosphorus on biodiesel production from *Scenedesmus obliquus* under nitrogen-deficiency stress. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 152, p. 241-246, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.013>.
- GARGOUCH, Nesrine; KARKOUCH, Ines; ELLEUCH, Jihen; ELKAHOUI, Salem; MICHAUD, Phillipe; ABDELKAFI, Slim; LAROCHE, Céline; FENDRI, Imen. Enhanced B-phycoerythrin production by the red microalga *Porphyridium marinum*: a powerful agent in industrial applications. *International Journal Of Biological Macromolecules*, [S.L.], v. 120, p. 2106-2114, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.037>.
- GOIRIS, Koen; VAN COLEN, Willem; WILCHES, Isabel; LEÓN-TAMARIZ, Fabián; COOMAN, Luc de; MUYLAERT, Koenraad. Impact of nutrient stress on antioxidant production in three species of microalgae. *Algal Research*, [S.L.], v. 7, p. 51-57, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2014.12.002>.
- HO, Shih-Hsin; CHEN, Ching-Nen Nathan; LAI, Yen-Ying; LU, Wei-Bin; CHANG, Jo-Shu. Exploring the high lipid

- production potential of a thermotolerant microalga using statistical optimization and semi-continuous cultivation. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 163, p. 128-135, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.028>.
- JOHNSON, Xenie; ALRIC, Jean. Central Carbon Metabolism and Electron Transport in *Chlamydomonas reinhardtii*: metabolic constraints for carbon partitioning between oil and starch. *Eukaryotic Cell*, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 776-793, jun. 2013. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/ec.00318-12>.
- PAN, Yi-Ying; WANG, Suz-Ting; CHUANG, Lu-Te; CHANG, Yen-Wei; CHEN, Ching-Nen Nathan. Isolation of thermotolerant and high lipid content green microalgae: oil accumulation is predominantly controlled by photosystem efficiency during stress treatments in *desmodesmus*. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 102, n. 22, p. 10510-10517, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.09>.
- PANCHA, Imran; CHOKSHI, Kaumeel; GEORGE, Basil; GHOSH, Tonmoy; PALIWAL, Chetan; MAURYA, Rahul Kumar; MISHRA, Sandhya. Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 156, p. 146-154, mar. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.025>.
- RAME, Rame; PURWANTO, Purwanto; SUDARNO, Sudarno. Sustainable energy harnessing: microalgae as a potential biofuel source and carbon sequestration solution. *Renewable Energy Focus*, [S.L.], v. 47, p. 100498, dez. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ref.2023.100498>.
- SCHUELTER, Adilson Ricken; KROUMOV, Alexander Dimitrov; HINTERHOLZ, Camila Larissa; FIORINI, Adriana; TRIGUEROS, Daniela Estelita Goes; VENDRUSCOLO, Eliane Gruska; ZAHARIEVA, Maya Margaritova; MÓDENES, Aparecido Nivaldo. Isolation and identification of new microalgae strains with antibacterial activity on food-borne pathogens. Engineering approach to optimize synthesis of desired metabolites. *Biochemical Engineering Journal*, [S.L.], v. 144, p. 28-39, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2019.01.007>.
- Utex. BG-11 Medium. 2023. Disponível em: <https://utex.org/products/bg-11-medium?variant=30991786868826>. Acesso em: 17 jul. 2023.
- VUPPALADADIYAM, Arun K.; YAO, Joseph G.; FLORIN, Nicholas; GEORGE, Anthe; WANG, Xiaoxiong; LABEEUW, Leen; JIANG, Yuelu; DAVIS, Ryan W.; ABBAS, Ali; RALPH, Peter. Impact of Flue Gas Compounds on Microalgae and Mechanisms for Carbon Assimilation and Utilization. *Chemsuschem*, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 334-355, 15 jan. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cssc.201701611>.
- WAGNER, Ines; STEINWEG, Christian; POSTEN, Clemens. Mono- and dichromatic LED illumination leads to enhanced growth and energy conversion for high-efficiency cultivation of microalgae for application in space. *Biotechnology Journal*, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 1060-1071, 19 maio 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/biot.201500357>.
- WEISS, Annika; SCHEBEK, Liselotte. The net energy ratio of microalgae biofuels production based on correlated cultivation parameters in flat plate photobioreactors. *Journal Of Cleaner Production*, [S.L.], v. 287, p. 125073, mar. 2021. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125073>.

WILLIAMSON, Ellen; ROSS, Ian L.; WALL, Benjamin T.; HANKAMER, Benjamin. Microalgae: potential novel protein for sustainable human nutrition. Trends In Plant Science, [S.L.], p. 1-0, set. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2023.08.006>.

YAP, Jiunn Kwok; SANKARAN, Revathy; CHEW, Kit Wayne; MUNAWAROH, Heli Siti Halimatul; HO, Shih-Hsin; BANU, J. Rajesh; SHOW, Pau Loke. Advancement of green technologies: a comprehensive review on the potential application of microalgae biomass. Chemosphere, [S.L.], v. 281, p. 130886, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130886>.

YIN, Zhihong; ZHU, Liandong; LI, Shuangxi; HU, Tianyi; CHU, Ruoyu; MO, Fan; HU, Dan; LIU, Chenchen; LI, Bin. A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: environmental pollution control and future directions. Bioresource Technology, [S.L.], v. 301, p. 122804, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122804>.