



Avaliação termogravimétrica da biomassa de *Chlorella vulgaris* cultivada em diferentes condições nutricionais

Thermogravimetric evaluation of the biomass of *Chlorella vulgaris* cultivated in different nutritional conditions

Elias Trevisan¹

Kemely Bruna Zandonadi Ferriani Branco²

Pedro Augusto Arroyo³

Resumo: A pirólise é uma alternativa que vem sendo avaliada para o aproveitamento da biomassa microalgal e vegetal na produção de biocombustíveis. A pirólise é um processo de conversão térmica que promove a quebra das cadeias carbono-carbono e forma ligações carbono-oxigênio. Assim, este trabalho teve por objetivo levantar informações sobre a influência que os nutrientes utilizados no cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* exercem na conversão térmica da biomassa. Para isto, avaliou-se a cinética de crescimento em quatro diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo, seguido da análise termogravimétrica da biomassa. Durante o processo de pirólise identificou-se os três estágios, sendo eles a desidratação, desvolatilização de compostos primários e a decomposição residual. Nestas três etapas ocorrem características distintas para as diferentes condições de nutrição inicial. As diferentes concentrações de nutrientes usadas resultaram em concentrações distintas de carboidratos, lipídeos e proteínas, isso resultou em uma perda de massa diferenciada durante a pirólise para as diferentes condições nutricionais. Outra característica que se sobressai do material é que este apresenta elevado teor de cinzas, entre 17 e 25%, restringindo o seu uso para a combustão e gaseificação.

Palavras-chave: Bioenergia; biomassa; biorrefinaria, pirólise.

¹ UEM – Universidade Estadual de Maringá

² UEM – Universidade Estadual de Maringá

³ UEM – Universidade Estadual de Maringá

Abstract: Pyrolysis is an alternative that has been evaluated for the use of microalgal and vegetal biomass in the production of biofuels. Pyrolysis is an invasion process that promotes the breaking of carbon-carbon chains and forms associated with carbon-oxygen. Thus, the objective of this work was to obtain information on the nutrients that can be used in the production of *Chlorella vulgaris* in the biomass thermal diet. For this study, it is important that the results obtained can be improved at different levels of nitrogen and phosphorus, in addition to thermogravimetric analysis of the biomass. During the identification process, three rules were identified: dehydration, devolatilization of primary jobs and residual decomposition. In these three stages different initial feeding conditions become distinct. The different sources of nutrients resulting from the ingestion of carbohydrates, lipids and proteins, are derived from a loss of mass during a piracy for the different nutritional conditions. Another characteristic of this material is that the energy indices, between 17 and 25%, restrict its use for combustion and gasification.

Keywords: Bioenergy; biomass; biorefinery; pyrolyse.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da demanda por combustíveis de fontes renováveis, que possam conter baixos níveis de poluentes, tais como SO_x, NO_x e compostos aromáticos, têm proporcionado o desenvolvimento de tecnologias para utilização de biomassa na produção de energia. A utilização da biomassa pode servir para mitigar parte da poluição, por meio do processo fotossintético e posteriormente conversão em biocombustíveis e outros produtos em uma biorrefinaria (CHEN et al., 2011, SOUSA-AGUIAR et al., 2013).

O conceito de biorrefinarias integra as instalações e os processos de produção de biocombustíveis a partir da conversão de biomassa. Nas mesmas, além de serem produzidos combustíveis líquidos, também podem ser produzidos outros produtos, que são adotados por processos clássicos da indústria petroquímica (DIAS et al., 2013, SOUSA-AGUIAR et al., 2013).

Nesse cenário, o uso de microalgas como matéria prima para a produção de biocombustíveis apresenta-se como um caminho promissor (HEREDIA-ARROYO et al., 2011, BHATNAGAR et al., 2011, PEREIRA et al., 2012, BAUMGARTNER et al., 2013a) que aproveita a sinergia das tecnologias utilizadas pelas biorrefinarias (CHEN et al., 2011, DIAS et al., 2013, SOUSA-AGUIAR et al., 2013). As microalgas possuem uma alta eficiência na conversão solar e biossorção de CO₂ e nutrientes, implicando alta produtividade de biomassa por área (LÓPEZ-GONZÁLEZ et al., 2014).

Entre as opções de utilização das microalgas em uma biorrefinaria, a fração lipídica tradicionalmente destinada à produção de biodiesel a qual pode ser processada de maneira convencional (McGINN et al., 2011). Além disso, a biomassa residual pode ser utilizada na conversão térmica, rota que tem se mostrado promissora com a utilização de processos de gaseificação, combustão, pirólise (SALDARRIAGA et al., 2015) e liquefação, para a geração de calor, produção de outros biocombustíveis líquidos, produtos químicos e carvão (LI et al., 2012). Dentre estes processos, a pirólise pode ser avaliada por meio da análise termogravimétrica, que é uma técnica que permite estudar o comportamento térmico de materiais carbonáceos, e a cinética das reações de decomposição térmica de diferentes combustíveis sólidos. Além disso, a análise termogravimétrica permite obter o perfil de combustão da biomassa, que é definido como a representação da perda de massa em função da temperatura, em atmosfera oxidante (MARCILLA et al., 2009, AGRAWAL & CHAKRABORTY, 2013, LI et al., 2013).

Segundo Phukan et al. (2011), a utilização de avaliações termogravimétricas da biomassa de microalgas representa de maneira geral as principais características da perda de massa. Com fases distintas, que inicia em temperatura ambiente e vai até 160 °C resultando na remoção da água absorvida fisicamente a células. Enquanto que de 160 a 440 °C tem sido apontado a

ocorrência da pirólise ativa, e de 440 a 650 °C a pirólise passiva.

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da concentração dos nutrientes nitrogênio e fósforo, utilizados classicamente na produção de biomassa de microalga *Chlorella vulgaris*, nas características de conversão térmica deste material.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Microrganismo e meio de cultivo

A microalga *Chlorella vulgaris* utilizada no presente trabalho foi gentilmente cedida pela Dra. Cláudia Maria Luz Lapa Teixeira, pesquisadora do Instituto Nacional de Tecnologia (INT) – RJ, a qual foi reproduzida e mantida no Laboratório de Catálise Heterogênea e Biodiesel (LCHBio), no Departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá.

Os experimentos com a microalga *C. vulgaris* foram realizados em erlenmeyers de 2 L, providos de agitação com ar atmosférico, com uma vazão de 2 L min⁻¹ fornecido por um compressor. O cultivo foi realizado em temperatura controlada (25 ± 2 °C) e fotoperíodo de 24 horas, fornecido por lâmpadas de 20 W, totalizando 5000 lux de iluminância.

As condições nutricionais foram estabelecidas a partir do meio DM (WATANABE, 1960), composto por KCl (0,25 g L⁻¹); MgSO₄.7H₂O (0,55 g L⁻¹); FeSO₄.7H₂O (0,02 g L⁻¹), e adicionado 1 mL L⁻¹ de solução A₅ que contém H₃BO₃ (2,9 g L⁻¹); MnCl₂.H₂O (1,81 g L⁻¹); ZnCl₂ (0,11 g L⁻¹); CuSO₄.5H₂O (0,08 g L⁻¹) e 3(NH₃)₂7MoO₃.4H₂O (0,018 g L⁻¹). A variação das concentrações de nitrogênio e fósforo no meio de cultivo foram obtidas com a adição dos sais, Ca(NO₃)₂.4H₂O e KH₂PO₄ conforme as condições descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Concentração inicial dos nutrientes nitrogênio e fósforo no meio de cultivo da microalga *C. vulgaris*.

CONDIÇÃO	NITROGÊNIO (mg L ⁻¹)	FÓSFORO (mg L ⁻¹)
0.12 _N -0.06 _P	120	60
0.24 _N -0.12 _P	240	120
0.36 _N -0.18 _P	360	180
0.48 _N -0.24 _P	480	240

Para a determinação da curva de crescimento, foi realizado contagem celular utilizando câmara de Neubauer. E, a taxa de crescimento exponencial (r, dia⁻¹), obtida por $\mu = (\ln(N/N_0))/\Delta t$.

2.2 Caracterização da biomassa recuperada

A determinação do teor de lipídeos totais foi realizada conforme a metodologia de Folch adaptada por Hosseini et al. (2015). O teor de proteína foi realizada pelo método de Bradford (1976) adaptado por Meijer & Wijffels (1998). O teor de cinzas foi determinado por Helrich (1990). E os carboidratos foram determinados por meio do balanço de massa (WANG et al., 2013).

2.3 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica foi realizada no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa – COMCAP, da Universidade Estadual de Maringá. Para o estudo termogravimétrico, utilizou-se equipamento de análise térmica TGA Q50, operado em atmosfera de N₂, com fluxo de 100 mL min⁻¹. E aumento da temperatura programada partindo de 50 °C até 800 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹. Esta análise também possibilita a determinação dos teores de carboidratos, cinzas, lipídeos, proteínas e umidade. Para isso foi utilizado o software OriginPro[®] versão 8.5, para a separação das curvas, por meio do ajuste de múltiplos picos.

2.4 Análise de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

A análise de FTIR foi realizada com um espectrômetro de FTIR da Bruker, modelo Vertex 70v, Alemanha. Configurado para fazer 100 scans com resolução de 4 cm⁻¹ e espaço espectral de 4000 à 400cm⁻¹.

2.5 Análise dos dados

Após a obtenção dos resultados foi realizada a análise de variância (ANOVA) dos dados obtidos com posterior teste de *Tukey* (post-hoc), utilizando o Software OriginPro[®] versão 8.5.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*

A Figura 1 apresenta os resultados de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*, cultivadas em quatro concentrações diferentes de nitrogênio e fósforo (Tabela 1).

A Tabela 2 apresenta as principais informações sobre o crescimento e as características da biomassa final após 14 dias de cultivo. Entre as informações obtidas está a recuperação da biomassa final, que teve nas condições 0.36_N-0.18_P a melhor produção, sendo que este valor ficou próximo ao da condição 0.24_N-0.12_P, enquanto que para os extremos da avaliação ficaram com valores bem abaixo. Portanto corroborou a avaliação feita por meio da *Anova* que apontou uma diferença significativa entre o uso de diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo, isso possibilita considerar um efeito negativo do excesso de nutrientes sobre as microalgas, carecendo de uma melhor avaliação destes aspectos.

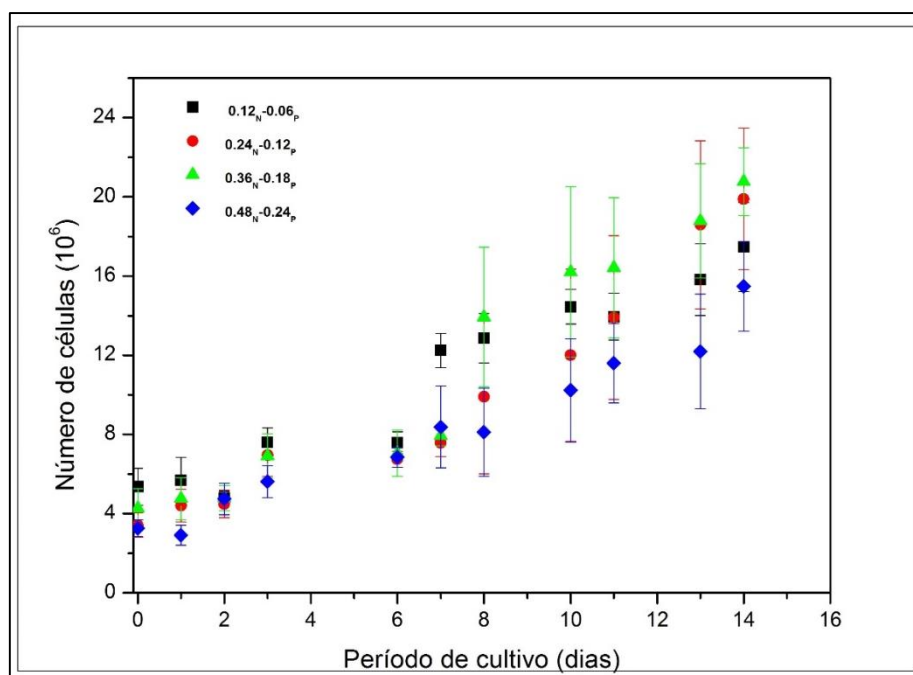


Figura 1: Curva de crescimento da microalga *C. vulgaris* utilizando diferentes concentrações de nutrientes.

Tabela 2: Características da biomassa recuperada em diferentes concentrações dos nutrientes nitrogênio e fósforo no meio de cultivo da microalga *C. vulgaris*.

	0.12_N-0.06_P	0.24_N-0.12_P	0.36_N-0.18_P	0.48_N-0.24_P
Biomassa (g L ⁻¹)	0,532 ± 0,091	0,650 ± 0,122	0,690 ± 0,0	0,539 ± 0,014
μ (d ⁻¹)	0,4707	0,5764	0,6938	0,3817
Umidade (%)	8,52	8,50	9,30	10,0
Lipídeos totais (%)	18,042 ± 1,037	13,209 ± 1,254	13,635 ± 0,174	14,169 ± 1,389
Proteína (%)	17,68 ± 0,009	19,006 ± 1,2539	20,68 ± 0,433	21,62 ± 2,446
Carboidratos (%)	47,52	45,94	49,0	53,13
Cinzas (%)	3,275 ± 0,203	5,239 ± 0,025	5,462 ± 0,551	7,359 ± 1,279

A biomassa obtida entre as duas concentrações extremas se assemelharam em seus resultados, sendo produzido 0,532 e 0,539 g L⁻¹ pela condição 0.12_N-0.06_P e 0.48_N-0.24_P, respectivamente. Portanto, os resultados estão ligados diretamente a disponibilidade do nitrogênio e fósforo no ambiente já que são os principais responsáveis pelo crescimento, desenvolvimento, reprodução e outras atividades fisiológicas. Como consequência tem-se alterações nos valores da composição química da biomassa recuperada, também destacada na Tabela 2.

Na composição química da biomassa ocorre uma tendência, reflexo das concentrações de nutrientes usadas durante o crescimento da microalga. Como se pode observar, o teor de lipídeos totais foi maior na condição em que tem-se menor concentração de nitrogênio e fósforo (0.12_N-0.06_P) sendo obtido 18,04%. Entretanto, os teores de lipídeos totais nas demais condições oscilou entre 13-14,2%, ou seja a disponibilidade de nutrientes ao longo de todo o cultivo, principalmente fósforo e nitrogênio, contribui para o acúmulo de lipídeos pelas microalgas. Efeito já mostrado por Kamalanathan et al. (2015) que avaliaram o impacto do

fósforo na produção de lipídeos pela microalga *Chlamydomonas reinhardtii* e por Xin et al. (2010) que estudaram diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo no acúmulo de lipídeos pela microalga *Scenedesmus* sp.. Outro fato importante também observado é que a maior produção de lipídeos totais possui impacto na produtividade da microalga, também ressaltado por Chu et al. (2013), sendo que esta tende a ser menor quando tem-se restrição de nutrientes.

A produção da proteína pelas microalgas também reflete as condições nutricionais do ambiente de crescimento, sendo que a condição 0.12_N-0.06_P alcançou 17,68%, o menor valor. Entretanto, a medida que tem-se um aumento das concentrações de nitrogênio ocorre uma elevação nos teores de proteína na biomassa a exemplo do apontado na Tabela 2, sendo obtido 21,62% pela condição 0.48_N-0.24_P. Isso deve-se ao fato de que o teor de proteína na microalga é influenciado pela concentração do meio e a abundância de nitrogênio pode promover a síntese da proteína (ZHANG et al., 2018).

Considerando que na condição 0,48_N-0,24_P obteve-se valores de biomassa e taxa de crescimento inferior a todas as demais, a produção de todos os outros compostos refletirão os aspectos deste aumento. Logo, tem-se a pior produtividade de lipídeos totais (76,37 mg L⁻¹), entre as condições avaliadas, enquanto que todas as demais foram superior a 84,5 mg L⁻¹. Porém, parte da biomassa foi convertida em outros compostos, sendo obtido proteína, cinzas e carboidratos com 21,62, 7,34 e 53,13%, respectivamente.

Tais observações indicam que a microalga apresenta dois comportamentos distintos. No primeiro caso os nutrientes não são limitantes e acabam por manter a divisão celular, elevadas taxas fotossintéticas, aumento na formação de proteína e clorofila (BAUMGARTNER et al., 2013b), com restrição quanto ao crescimento da célula (ZHOU et al., 2013, LI et al., 2016). Enquanto, o segundo caso ocorre quando os nutrientes são um fator limitante no meio de cultivo, ocorrendo assim uma redução na taxa fotossintética, redução das cinzas e do teor de proteína (BERTOLDI et al., 2008) e, aumento do teor de lipídeos (LI et al., 2016).

3.2 Avaliação termogravimétrica da microalga *Chlorella vulgaris*

Na Figura 2 são apresentadas as avaliações termogravimétricas para a biomassa da microalga *Chlorella vulgaris*, sendo destacado as três fases características em que ocorre redução da massa do material analisado. Na fase I, que corresponde ao intervalo da temperatura ambiente até aproximadamente 170 °C, nesta etapa acontece a desidratação e liberação de compostos voláteis (YUAN et al., 2015); na fase II, tem-se a maior redução da massa, ela ocorre do final da fase I até aproximadamente 480 °C, com a decomposição de materiais orgânicos por meio da pirólise (CHEN et al., 2012; LÓPEZ-GONZÁLEZ et al., 2014); enquanto que na última etapa, a fase III, ocorre entre 480 °C até temperatura final, sendo característica a redução da massa de maneira muito lenta, principalmente de materiais carbonáceos (CHEN et al., 2012; YUAN et al., 2015).

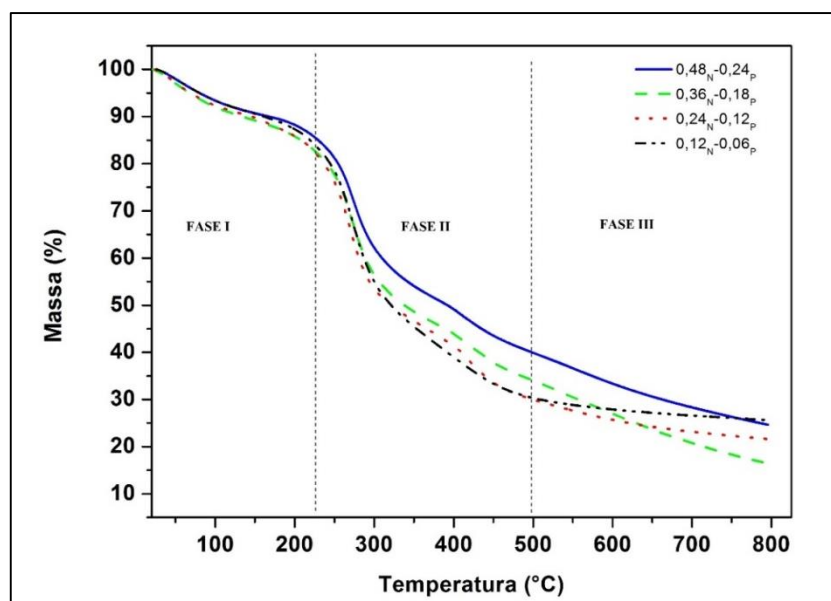


Figura 2: Análise termogravimétrica da biomassa produzida em diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo.

Na Figura 3 são demonstrados os eventos específicos de decomposição dos compostos que formam a biomassa, sendo identificados dentro de cada fase a partir da primeira derivada (DTG). Enquanto que, na Tabela 3 são destacados os valores obtidos para cada composto a partir da avaliação termogravimétrica. Durante a fase I (Fig. 3) que se distribui da temperatura ambiente até próximo a 160 °C, ocorreu uma perda de massa de aproximadamente 10% devido a remoção da umidade residual na biomassa, esses valores se aproximam aos obtidos e destacados na Tabela 2. Esta umidade ainda presente é devido as condições de secagem da biomassa recuperada que foi utilizada (60 °C), que visaram a manutenção das características da microalga. Ainda, segundo Sanchez-Silva et al. (2013) nesta fase ocorre a remoção de água livre e CO₂ (25-125 °C), e da água celular (até 160 °C) que permanece na biomassa após a colheita e secagem. A segunda fase, pode ser dividida em duas etapas, sendo a primeira entre as temperaturas de 180-400 °C com característica de cinética rápida devido a decomposição dos carboidratos e proteína e a segunda que ocorre entre 400 e 500 °C, possuindo cinética lenta decompondo os lipídeos (BELOTTI et al., 2014). Como a biomassa da *C. vulgaris* é composta em sua maior parte de carboidratos e proteínas, explica o comportamento da redução da massa ser mais acentuado nesta faixa já que a decomposição destes iniciou-se a partir de 180 °C. Enquanto que para a biomassa 0,12_N-0,06_P o segundo pico, referente aos lipídeos, não é tão pronunciado como os demais, isso devesse ao fato que essa condição resultou em um maior teor do que as demais. Além disso, a decomposição dos lipídeos inicia a partir de 350 °C, primeiramente decompondo os ácidos graxos livres e por final os triglicerídeos (DUPAIN et al., 2007, SMETS et al., 2011).

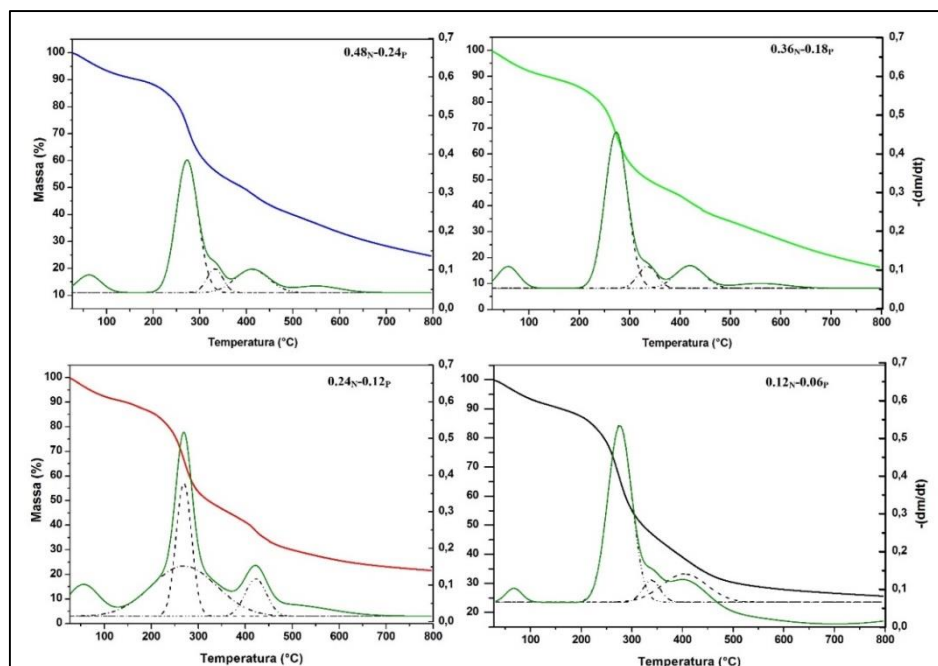


Figura 3: Primeira derivada da termogravimetria da microalga *C. vulgaris* cultivada em diferentes concentrações de nutrientes.

A fase III apresenta a remoção de material carbonáceo de maneira lenta e gradual, que ocorre entre 500 e 800 °C, mas ao final apresenta elevado teor de cinzas. Quando comparados os teores de cinzas final entre a metodologia em mufla e a determinada a partir da TGA, tem-se valores bem distintos. Esta diferença pode estar associada ao fato que a metodologia em mufla utiliza um tempo de permanência de 60 minutos na temperatura de 450 °C, ocasionando a decomposição do material carbonáceo, enquanto que a análise da TGA a temperatura eleva-se até 800 °C. O maior valor no final tende a ser superior nas condições de cultivo em que teve um maior crescimento em detrimento do acúmulo de lipídeos, isso ocorre pela menor concentração de carbono na composição química da biomassa, também identificadas em outros trabalhos (SMETS et al., 2011, BELOTTI et al., 2014). Os valores obtidos a partir da TGA estão sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3: Característica da microalga *C. vulgaris* determinada a partir da DTG.

	0,12 _N -0,06 _P	0,24 _N -0,12 _P	0,36 _N -0,18 _P	0,48 _N -0,24 _P
Umidade (%)	6,1	8,7	7,7	7,5
Carboidratos (%)	37,1	30,3	34,1	30,5
Proteínas (%)	10,6	14,8	11,0	11,0
Lipídeos (%)	17,9	14,4	12,7	13,1
Cinzas (%)	25,6	23,3	16,5	24,7
Outros voláteis (%)	2,7	8,5	18,0	13,0

3.3 Análise de FTIR da biomassa da microalga *Chlorella vulgaris*

Na Figura 4 são demonstrados as avaliações de FTIR da biomassa recuperada das quatro condições nutricionais da *C. vulgaris*. A absorção do espectro infravermelho permite a impressão bioquímica de microrganismos, fornecendo informações sobre o conteúdo interno das células (AMI et al., 2014). A partir disto na Figura 4 identifica-se as vibrações características para carboidratos, proteínas e lipídeos.

A maior absorção entre 1.000 e 1.200 cm^{-1} está de acordo com os valores encontrados na TGA e análises químicas obtidas para a biomassa. Entretanto os carboidratos devido a sua complexidade são identificados entre as faixas de 900 - 1.250 cm^{-1} , sendo partir de 900 cm^{-1} identificados os polissacarídeos que podem ser usados como reserva energética ou estrutural. Enquanto que as vibrações do grupo C-O, próprias dos carboidratos, são encontrados entre os comprimentos de 1.040 - 1.080 cm^{-1} (PISTORIUS et al., 2009).

Já no comprimento de onda de 1.245 cm^{-1} , ocorre a absorção do alongamento assimétrico de P=O característica do fosfodiéster dos ácidos nucleicos e fosfolipídeos. Entre as condições avaliadas ocorre um aumento na intensidade da absorção a partir da $0,48\text{N}-0,24\text{P}$ para $0,12\text{N}-0,06\text{P}$, indicando que ocorre um aumento na formação de lipídeos a medida que ocorre restrição de nutrientes.

No comprimento de onda 1.388 - 90 cm^{-1} ocorre a deformação assimétrica dos grupos metil e metileno e a deformação simétrica do C-O, metil e metileno encontrados na proteína e grupos carboxílicos (MOVASAGHI et al., 2008, MAYERS et al., 2013). Enquanto que as cadeias acil de lipídeos são absorvidos no comprimento de 1.465 cm^{-1} .

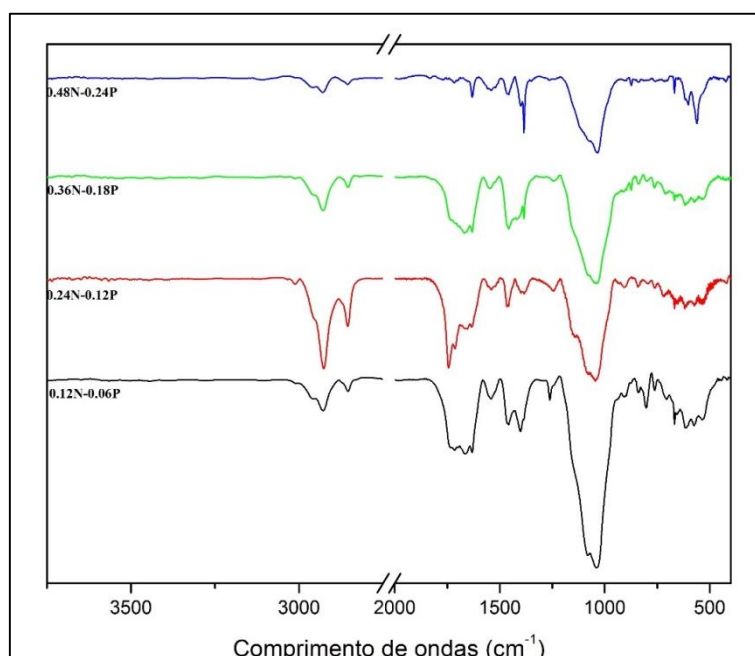


Figura 4: FTIR da microalga *C. vulgaris* cultivada em diferentes concentrações de nutrientes.

As proteínas como já demonstrado pelas análises bioquímicas e pela TGA possui um teor inferior ao dos carboidratos. A proteína pode ser identificada pela absorção em 1.545 cm^{-1}

pela deformação simétrica de N-H e pelo alongamento simétrico de C-N, característico de amido II e em 1.631 cm^{-1} pelo alongamento simétrico de C-O.

Os valores de lipídeos apontam para uma tendência diferente das demais avaliações, sendo que para as análises de FTIR apontam um menor teor de lipídeos para a condição 0,12_N-0,06_P, que podem estar na forma de fosfolipídeos, encontrado nos comprimentos iniciais da avaliação. Os lipídeos da biomassa é identificado por três posições de absorção, sendo a primeira pelo alongamento simétrico do grupo C=O, característica da presença de éster de lipídeos e ácidos graxos. O segundo refere-se aos grupos metil e metileno que também possui um estiramento simétrico em 2.854 cm^{-1} e por último em 2.920 cm^{-1} o alongamento assimétrico do grupo do metileno (MAYERS et al., 2013).

4. Conclusão

A composição bioquímica da microalga é reflexo da nutrição empregada durante a sua fase de multiplicação e crescimento. Logo, as concentrações inferiores de nutrientes disponíveis proporcionam maiores teores de lipídeos totais, devido ao detrimento da multiplicação celular que dá lugar ao armazenamento de energia na forma de lipídeos, proteína e carboidratos. A maior disponibilidade do nitrogênio no ambiente proporciona maior produção celular e um maior acúmulo de proteína, bem como, de carboidratos na biomassa.

A utilização da análise termogravimétrica demonstrou alterações em função de uma maior ou menor concentração de nitrogênio e fósforo. Com a devida identificação dos compostos que foram decompostos durante o processo de pirólise. Essa alterações na biomassa em consequência das condições de cultivo, são confirmadas por meio da técnica de FTIR que demonstra a alteração na intensidade de diferentes comprimentos de onda. As quais indicam indicaram que, para o presente caso, a biomassa produzida é mais adequada a utilização em processos de combustão e gaseificação. Assim, as informações obtidas podem ser úteis na rápida e eficiente identificação da composição química da biomassa.

Agradecimentos

Agradecimentos a CAPES pelo apoio financeiro.
Agradecimentos a COMCAP-UEM.

Referências

AGRAWAL, A., CHAKRABORTY, S. 2013. A kinetic study of pyrolysis and combustion of microalgae *Chlorella vulgaris* using thermo-gravimetric analysis. *Bioresource Technology*, 128, 72-80.

AMI, D., POSTERI, R., MEREGHETTI, P., PORRO, D., DOGLIA, S. M., BRANDUARDI, P. 2014. Fourier transform infrared spectroscopy as a method to study lipid accumulation in oleaginous yeasts. *Biotechnology for Biofuels*. 7, 1-14.

BAUMGARTNER, T. R. S., BURAK, J. A. M., BAUMGARTNER, D., ZANIN, G. M., ARROYO, P. A. 2013a. Biomass production and ester synthesis by in situ transesterification/

esterification using the microalga *Spirulina platensis*. *International Journal of Chemical Engineering*. 2013, 1-7.

BAUMGARTNER, T. R. S., BURAK, J. A. M., KOGIKOSKI, M. E., SEBASTIEN, N. Y., ARROYO, P. A. 2013b. Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. *Revista Brasileira de Biociências*. 11 (2), 250-255.

BELOTTI, G., CAPRARIIS, B., FILIPPIS, P., SCARSELLA, M., VERDONE, N. 2014. Effect of *Chlorella vulgaris* growing conditions on bio-oil production via fast pyrolysis. *Biomass and bioenergy*, 61,187-195.

BERTOLDI, F. C. SANT'ANNA, E., OLIVEIRA, J. L. B. 2008. Revisão: Biotecnologia de Microalgas. *B. CEPPA*, 26(1), 9-20.

BHATNAGAR, A., CHINNASAMY, S., SINGH, M., DAS, K. C. 2011. Renewable biomass production by mixotrophic algae in the presence of various carbon sources and wastewaters. *Applied Energy*, 88 (10), 3425-3431.

CHEN, C., MA, X., HE, Y. 2012. Co-pyrolysis characteristics of microalgae *Chlorella vulgaris* and coal through TGA. *Bioresource Technology*, 117, 264-273.

CHEN, C., MA, X., LIU, K. 2011. Thermogravimetric analysis of microalgae combustion under different oxygen supply concentrations. *Applied Energy*, 88(9), 3189-3196.

CHU, F., CHU, P., CAI, P., LI, W., LAM, P. K. S., ZENG, R. J. 2013. Phosphorus plays an important role in enhancing biodiesel productivity of *Chlorella vulgaris* under nitrogen deficiency. *Bioresource Technology*, 134, 341-346.

DIAS, M. O. S., JUNQUEIRA, T. L., CAVALETT, O., PAVANELLO, L. G., CUNHA, M. P., JESUS, C. D. F., FILHO, R. M., BONOMI, A. 2013. Biorefineries for the production of first and second generation ethanol and electricity from sugarcane. *Applied Energy*, 109, 72-78.

DUPAIN, X., COSTA, D. J., SCHAUVERIEN, C. J., MAKKEE, M., MOULIJN, J. A. 2007. Cracking of a rapeseed vegetable oil under realistic FCC conditions. *Applied Catalysis B: Environmental*, 72, 44-61.

HELDRICH, K., 1990. Official Methods of Analysis of AOAC International, fifteen ed. AOAC International, Arlington.

HEREDIA-ARROYO, T., WEI, W., RUAN, R., HU, B. 2011. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* and its potential application for the oil accumulation from non-sugar materials. *Biomass and Bioenergy*, 35(5), 2245-2253.

HOSSEINI, N. S., SHANG, H., ROSS, G. M., SCOTT, J. A., 2015. Microalgae cultivation in a novel top-lit gas-lift open bioreactor. *Bioresource Technology*, 192, 432-440.

LI, T., XU, J., GAO, B., XIANG, W., LI, A., ZHANG, C. 2016. Morphology, growth, biochemical composition and photosynthetic performance of *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) under low and high nitrogen supplies. *Algae Research*, 16, 481-491.

LI, Y., MOORE, R. B., QIN, J. G., SCOTT, A., BALL, A. S. 2013. Extractable liquid, its energy and hydrocarbon content in the green alga *Botryococcus braunii*. *Biomass and Bioenergy*, 52, 103-112.

LI, D., CHEN, L., CHEN, S., ZHANG, X., CHEN, F., YE, N. 2012. Comparative evaluation of the pyrolytic and kinetic characteristics of a macroalga (*Sargassum thunbergii*) and a freshwater plant (*Potamogeton crispus*). *Fuel*, 96, 185-191.

LÓPEZ-GONZÁLEZ, D., FERNANDEZ-LOPEZ, M., VALVERDE, J. L., SANCHEZ-SILVA, L. 2014. Kinetic analysis and thermal characterization of the microalgae combustion process by thermal analysis coupled to mass spectrometry. *Applied Energy*, 114, 227-237.

MARCILLA, A. GÓMEZ-SIURANA, A., GOMIS, C. CHÁPULI, E., CATALÁ, M. C., VALDÉS, F. J. 2009. Characterization of microalgal species through TGA/FTIR analysis:

Application to *nannochloropsis* sp. *Thermochimica Acta*, 484(1-2), 41-47.

MAYERS, J. J., FLYNN, K. J., SHIELDS, R. J. 2013. Rapid determination of bulk microalgal biochemical composition by Fourier-Transform Infrared spectroscopy. *Bioresource Technology* 148, 215–220.

MEIJER, E. A., WIJFFELS, R. H., 1998. Development of a fast, reproducible and effective method for the extraction and quantification of proteins of micro-algae. *Biotechnology Techniques*, 12 (5), 353-358.

McGINN, P. J., DICKINSON, K. E., BHATTI, S., FRIGON, J., GUIOT, S. R., O'LEARY, S. J. B. 2011. Integration of microalgae cultivation with industrial waste remediation for biofuel and bioenergy production: Opportunities and limitations. *Photosynthesis Research*, 109(1-3), 231-247.

MOVASAGHI, Z., REHMAN, S., REHMAN, I. U. 2008. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43, 134-179.

PEREIRA, C. M. P., HOBUSS, C. B., MACLEL, J. V., FERREIRA, L. R., DEL PINO, F. B., MESKO, M. F., JACOB-LOPES, E., NETO, P. C. 2012. Biodiesel derived from microalgae: Advances and perspectives. *Quimica Nova*, 35(10), 2013-2018.

PHUKAN, M. M., CHUTIA, R. S., KONWAR, B. K., KATAKI, R. 2011. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. *Applied Energy*, 88, 3307-3312.

PISTORIUS, A. M. A., DEGRIP, W. J., EGOROVA-ZACHERNUK, T. A. 2008. Monitoring of Biomass Composition From Microbiological Sources by Means of FT-IR Spectroscopy. *Biotechnology and Bioengineering*, 103 (1), 123-129.

SALDARRIAGA, J. F. AGUADO, R., PABLOS, A., AMUTIO, M., OLAZAR, M., BILBAO, J. 2015. Fast characterization of biomass fuels by thermogravimetric analysis (TGA). *Fuel*, 140, 744-751.

SANCHEZ-SILVA, LÓPEZ-GONZÁLEZ, D., GARCIA-MINGUILLAN, A. M., VALVERDE, J. L. 2013. Pyrolysis, combustion and gasification characteristics of *Nannochloropsis gaditana* microalgae. *Bioresource Technology*. 130, 321-331.

SMETS, K., ADRIAENSES, P., REGGERS, G., SCHREURS, S., CARLEER, R., YPERMAN, J. 2011. Flash pyrolysis of rapeseed cake: Influence of temperature on the yield and the characteristics of the pyrolysis liquid. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 90, 118-125.

SOUSA-AGUIAR, E. F., APPEL, L. G., ZONETTI, P. C., FRAGA, A. C., BICUDO, A. A., FONSECA, I. 2014. Some important catalytic challenges in the bioethanol integrated biorefinery. *Catalysis Today*, 234, 13-23.

WANG, K., BROWN, R. C., HOMSY, S., MARTINEZ, L., SIDHU, S. S., 2013. Fast pyrolysis of microalgae remnants in a fluidized bed reactor for bio-oil and biochar production. *Bioresource Technology*. 127, 494-499.

WATANABE, A. 1960. List of algal strains in collection at the institute of applied microbiology, University of Tokyo. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 6(4), 283-292.

XIN, Y., HONG-YING, H., KE, G., YING-XUE, S. 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, 101, 5494-5500

YUAN, T., TAHMASEBI, A., YU, J. 2015. Comparative study on pyrolysis of lignocellulosic and algal biomass using a thermogravimetric and a fixed-bed reactor. *Bioresource Technology*. 175, 333-341.

ZHANG, L., CHENG, J., PEI, H., PAN, J., JIANG, L., HOU, Q., HAN, F. 2018. Cultivation of microalgae using anaerobically digested effluent from kitchen waste as a nutrient source for biodiesel production. *Renewable Energy*, 115, 276-287.

ZHOU, L., WANG, Y., HUANG, Q., CAI, J. 2006. Thermogravimetric characteristics and kinetic of plastic and biomass blends co-pyrolysis. *Fuel Processing Technology*, 87, 963-969.