

TÉCNICAS DE CRESCIMENTO DA MICROALGA DUNALIELLA SALINA PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL E SEPARAÇÃO DE ÓLEO E BIOMASSA PRODUZIDOS NO PROCESSO

André von Held Soares¹

Bruno Iung Torbey²

Fabio Barboza Passos³

Luciane Pimentel Costa Monteiro⁴

Resumo: As microalgas apresentam uma produtividade dezenas de vezes maior quando comparadas a outras matérias-primas produtoras de óleo. Deste modo, são capazes de suprir as necessidades da demanda de biodiesel a ser adicionado ao diesel e, inclusive, sua total substituição. Sendo assim, o presente estudo tem o propósito de avaliar a viabilidade da produção de óleo a partir de microalgas *Dunaliella salina*. O trabalho inclui a avaliação de seu crescimento através de diferentes técnicas, até a separação do óleo e biomassa produzidos. Em um primeiro momento, foram apontadas as melhores condições de cultivo e desenvolvimento da alga, para, posteriormente, proceder a avaliação da biomassa produzida e da fase líquida contendo água e óleo.

Palavras-chave: biodiesel, microalgas, biomassa, *Dunaliella salina*, foto-bio-reator

Abstract: When compared to other sources, some species of microalgae present a much larger production of oil. Therefore, they are capable of fulfilling the biodiesel demands to be added to petroleum derived diesel, and even to substitute petroleum diesel as fuel. The present work focuses on the viability of oil production from the algae *Dunaliella salina*, covering the evaluation of different techniques employed to achieve optimal cellular growth, until the separation of produced oil and biomass. At first the best cultivation conditions are pointed out and then, takes place the evaluation both of the biomass and the liquid oil-water phase.

Keywords: biodiesel, microalgae, biomass, *Dunaliella salina*, photo-bioreactor

1. INTRODUÇÃO

Grande parte da energia consumida no mundo é proveniente de combustíveis fósseis: carvão, petróleo e gás natural. Entretanto, tais fontes não são renováveis, e possuem previsão de esgotamento em um futuro próximo (SCHUCHARDT *et al.*, 1998). Além disso, os combustíveis fósseis possuem como agravante o fato de serem grandes poluidores do meio ambiente,

o que tem motivado a pesquisa por fontes mais limpas de energia. A utilização de biodiesel vem crescendo em diversos países, devido principalmente às suas contribuições ao meio ambiente. O biodiesel é derivado de fontes renováveis, o que reduz a dependência do petróleo; é biodegradável; reduz a emissão de diversos gases causadores do efeito estufa, com exceção de óxidos de nitrogênio (KNOTHE *et al.*, 2005).

¹ Engenheiro Químico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – UFF andrevonheld@gmail.com

² Engenheiro Químico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – UFF brunouffeq@gmail.com

³ S.Dc. Departamento de Engenharia Química e de Petróleo – UFF fbpassos@vm.uff.br

⁴ S.Dc. Departamento de Engenharia Química e de Petróleo – UFF lucianemonteiro@predialnet.com.br

O biodiesel pode ser obtido através de óleos vegetais ou de gorduras animais. Atualmente, o processo mais utilizado para a produção desse combustível é a transesterificação (figura 1), que consiste na reação do óleo ou gordura com um álcool, em presença de um catalisador (BRASIL,

2009). Em tese, qualquer matriz rica em lipídeos pode ser utilizada na obtenção do biocombustível. Por esse motivo, as microalgas estão sendo consideradas potenciais fontes para a produção de biodiesel (LOURENÇO, 2006).

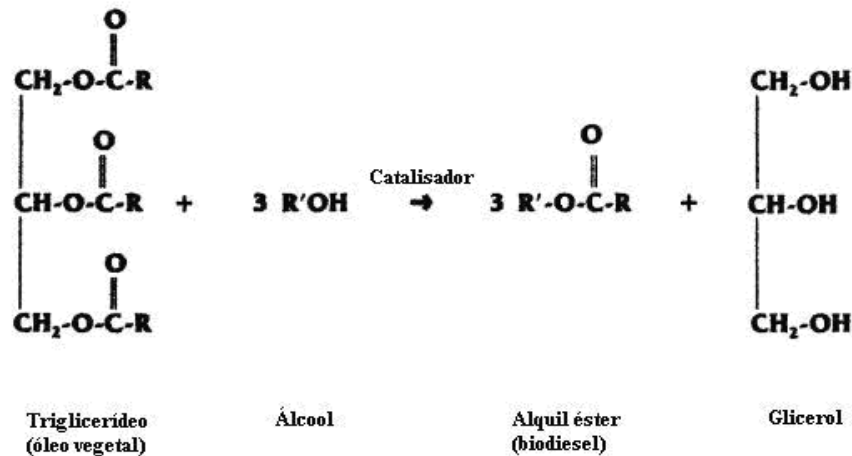


Figura 1 - Reação de transesterificação

Fonte: Kno0the *et al.* (2005).

Considerando-se todos os fatores que influenciam na eficiência da fotossíntese, torna-se crucial conhecer como cada um deles influencia na taxa de conversão energética da espécie da microalga, incluindo entre eles o teor de CO₂, o ponto máximo de saturação de luz para a produção fotossintética e o comportamento metabólico sob diferentes condições de luminosidade e densidade populacional, o que exige acompanhamento constante, a fim de evitar danos ao mecanismo fotossintetizante. Além disso, as microalgas são os organismos mais eficazes no processo de conversão da energia luminosa em energia química. Crescem rapidamente e são eficientes conversores de energia solar e produzem muito mais biomassa por unidade de área de terra plantada quando comparada com plantas terrestres e, não necessitam de áreas aráveis ou de água potável, não competindo, dessa forma, com a agricultura, animais ou pessoas.

O objetivo do presente trabalho é avaliar as técnicas mais comuns de crescimento celular para obtenção de quantidades suficientes da microalga *Dunaliella salina*, a fim de lhe extrair óleo com potencial de ser convertido em biodiesel, bem

como apontar os principais métodos de separação óleo-água.

2. O BIODIESEL

Óleos vegetais e gorduras animais são compostos basicamente pelos chamados triglicerídeos. Quimicamente, triglicerídeos são ésteres de ácidos graxos com glicerol (1,2,3- propanotriol).

Triglicerídeos de óleos vegetais e gorduras animais contêm diferentes ácidos graxos. Como diferentes ácidos graxos possuem diferentes propriedades físicas e químicas e, o perfil do ácido graxo, provavelmente é o mais importante parâmetro que influencia as propriedades de um óleo vegetal ou de uma gordura animal (KNOTHE, 2005).

Atualmente, a transesterificação é o processo mais utilizado para a produção de biodiesel (BRASIL, 2009).

Nessa reação, o óleo vegetal ou a gordura animal reage na presença de um catalisador (normalmente, uma base) com um álcool (normalmente, metanol), dando como produto principal o alquil éster correspondente ao álcool utilizado (no caso do metanol, metil éster) (KNOTHE, 2005).

Diversas espécies vegetais podem ser utilizadas como insumo para a produção de biodiesel, tais como mamona, dendê (palma), girassol, babaçu, amendoim, pinhão manso e soja, dentre outras (BRASIL, 2009).

Também se pode utilizar sebo animal e óleos de fritura usados. Mudanças no processo de produção de biodiesel podem ser necessárias, dependendo da origem e da qualidade da matéria prima (KNOTHE, 2005).

Utiliza-se biodiesel puro ou em misturas com o petrodiesel, em diferentes proporções. Quando o combustível é proveniente da mistura dos dois óleos, recebe o nome da percentagem de biodiesel presente.

Quando a mistura possui 2% de biodiesel, é denominada B2; quando apresenta 20%, B20; assim por diante, até B100, que é o biodiesel puro (SILVA E FREITAS, 2008).

Ambientalmente, a utilização de biodiesel é extremamente vantajosa. Barnwal e Sharma, citados por Silva e Freitas (2008), compararam o óleo diesel convencional e o biodiesel em relação à emissão de gases poluentes, e obtiveram resultados favoráveis ao biocombustível. Concluiu-se que a emissão de SO₂ foi extinta, a fuligem diminuiu em 60%, as emissões de monóxido de carbono e de hidrocarbonetos diminuíram em 50%, os hidrocarbonetos poliaromáticos foram reduzidos em mais de 70% e os gases aromáticos diminuíram em 15%.

3. MICROALGAS *DUNALIELLA SALINA*

A microalga *Dunaliella salina*, apresentada na figura 2, tem amplamente divulgada sua utilização como fonte de carotenóides, especialmente de β -caroteno, de grande interesse na alimentação humana, graças ao potencial de hidrólise de sua molécula e produção de duas moléculas de vitamina A (retinol). Enquanto a vitamina A é tóxica em altas concentrações, o β -caroteno parece não apresentar problemas quando em concentrações altas no organismo humano (HENRIQUES *et al.*, 1998).

O destino natural desta microalga na cadeia alimentar é integrar o fitoplâncton marinho, compondo parte importante da nutrição de peixes larvais e crustáceos por conta dos ácidos graxos polinsaturados em seu interior. O uso industrial desta alga abrange desde a alimentação

de espécies marinhas de iguarias até a nutrição e medicina humanas. Nesta última, o β -caroteno é utilizado como agente anti-oxidante e agente anti-câncer. É uma espécie microscópica, com reprodução sexuada e sem parede celular, possuindo apenas uma membrana pouco rígida (LOURENÇO, 2006).

Esta última característica é de especial interesse na produção industrial em larga escala, pois facilita os processos de separação óleo-água, não havendo necessidade da adição de energia mecânica, ou de tratamento químico para ruptura da parede. Deve-se, entretanto, atentar para as particularidades de escoamento, que são proibitivos no caso de regime altamente turbulento, ou de intensa tensão cisalhante. A amplitude de temperaturas de cultivo é bastante ampla, variando de -5 a 40 °C (LOURENÇO, 2006), o que representa uma vantagem adicional na operação industrial de foto-bio-reatores.

Para a produção de biodiesel a partir de *Dunaliella salina*, é imperativo que se faça a devida separação de compostos de interesse em escala, bem como que haja o fornecimento de nutrientes adequados, como nitratos, reguladores de pH e iluminação adequada. O controle destas variáveis pode conduzir à produção de células em grande quantidade ou à produção de substâncias de interesse, não estando ambas as produções necessariamente ligadas.

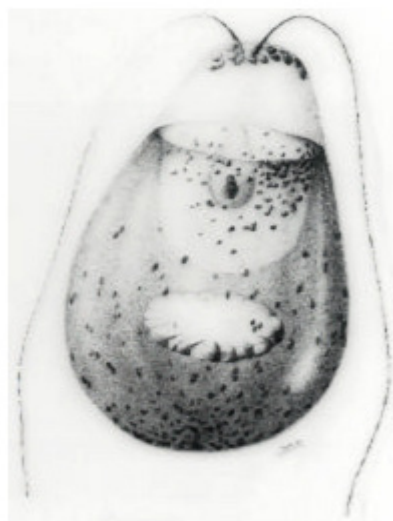


Figura 2 - Ilustração científica de *Dunaliella salina*

Fonte: Henriques *et al.* (1998).

4. LAGOAS, RACEWAY PONDS E FOTOBIORREADORES PARA O CRESCIMENTO DE MICROALGAS

Técnicas de crescimento de microalgas são relatadas para diferentes utilizações e fins.

De acordo com a espécie cultivada, a literatura indica qual técnica é preferida. As três principais, amplamente divulgadas, são lagoas de crescimento, *raceway ponds* e foto-bio-reatores.

Quando vistos como reações de interesse, especialmente em larga escala, o crescimento e a reprodução de microalgas devem, preferencialmente, ser aplicados a foto-bio-reatores, embora todos os métodos sejam de amplo uso, pois estão relacionados ao processo de fotossíntese que ocorre no interior das células. Cabe destacar que a eficiência dos métodos variará, portanto, conforme o controle das condições de operação de cada sistema.

Lagoas de crescimento são formas naturais de crescimento que têm sido preferidas para *Dunaliella salina* e outras espécies de algas (LOURENÇO, 2006). Para esta metodologia de produção são necessárias grandes áreas de cultivo e a produção depende da incidência natural de raios solares, que é variável a cada estação do ano e também depende da região geográfica onde se situam as lagoas. Lagoas deste tipo são utilizadas na Califórnia, em Cingapura e na Tailândia (SIM *et al.*, 1988). O principal atrativo do uso de lagoas é o fato de terem fácil operação e boa produtividade para algumas espécies.

Uma forma mais intensiva na produção é obtida por *raceway ponds*, que são lagoas constantemente agitadas por pás, que são movimentadas por um motor. Basicamente, as dificuldades deste tipo de processo são as mesmas das lagoas, pois sua produção depende estreitamente das condições do ambiente onde o *raceway pond* está situado. Entretanto, sua versatilidade é maior, graças a possíveis alterações no escoamento, ajustáveis a cada espécie de interesse.

A terceira técnica, que desperta maior interesse, é o uso de foto-bio-reatores, por suas ca-

racterísticas eminentemente operacionais para produções em larga escala. Tanto vazões, como concentrações e velocidades de escoamento são ajustadas para a espécie, o que confere ao processo preferência para produções otimizadas e com maior pureza.

É apresentada uma tabela comparativa entre as três técnicas presentemente descritas para o cultivo de microalgas (Tabela 1).

Um foto-bio-reator pode ser definido como um reator em que ocorre o processamento de reações bioquímicas de interesse, que ocorrem na presença de luz. Sua fabricação, portanto, deve partir de materiais como vidro ou plástico, que permitem a passagem de luz para a cultura.

Duas disposições geométricas prevalecem como preferenciais para grandes produções, pois possibilitam uma maior superfície iluminada por unidade de volume, além de disporem a fase fluida em camadas relativamente finas para prevenir zonas escuras. São estas disposições: tubular ou em placa, para reatores cobertos e fechados (ROSELO SASTRE *et al.*, 2007).

Entretanto, mesmo para estas disposições há desafios na obtenção dos melhores parâmetros de operação e de produção, devidos à dinâmica de escoamento, à iluminação do reator e às limitações de conhecimento das reações fisiológicas que proporcionam o crescimento das microalgas.

Para efeitos de simplificação no cálculo do foto-bio-reator, a taxa de crescimento r_g , ou produtividade volumétrica das células, é descrita a partir da lei de velocidade:

$$r_g = \mu C_c \quad (1),$$

comumente conhecida como equação de Monod, onde μ é a velocidade específica de crescimento e C_c é a concentração celular (FOGLER, 2002).

A velocidade específica de crescimento pode ser descrita como:

$$\mu = \mu_{max} C_s / (K_s + C_s) \quad (2)$$

Tabela 1 - Comparação de diferentes técnicas para produção de microalgas

| | Processo | Conc. de CO ₂ e O ₂ | Temp. | Escoamento | Iluminação | Controle | Produtividade |
|-------------------|----------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Lagoas | Batelada | Dependência do ambiente | Dependência do ambiente, presença de gradientes com a profundidade | Sob influência de ventos | Precária para zonas de grande profundidade | Operação simples, não requer controle | Sazonal e distribuída geograficamente |
| Raceway ponds | Contínuo | Dependência do ambiente | Dependência do ambiente, distribuição homogênea por convecção | Laminar ou Turbulento | Precária para zonas de grande profundidade | Velocidade, vazões e concentração de insumos | Sazonal e distribuída geograficamente |
| Foto-bio-reatores | Contínuo | Controlada na entrada do sistema e expurgada por equipamento de exaustão | Ajuste por serpentinas em aparelhagem de purga de gás ou no coletor solar | Laminar ou Turbulento | Abrange maior parte do reator eficientemente | Velocidade, vazão, iluminação, concentrações e temperatura | Independente de condições climáticas |

onde μ_{max} é a velocidade específica de crescimento máxima, C_s é a concentração de substrato adicionado ao reator, que deve ser assumido como o nutriente limitante no meio de cultivo para a microalga e K_s é a constante de Monod (FOGLER, 2002). Para efeitos de aplicações ambientais, com interesse particular na remoção de CO₂ atmosférico, C_s pode levar em conta a concentração de gás carbônico. Modelos alternativos são fornecidos para esta aplicação (JACOB-LOPES *et al.*, 2008).

Alternativamente, para uma melhor adequação a sistemas envolvendo microalgas, deve-se relacionar a velocidade específica de crescimento à irradiação média no meio, que está diretamente ligada ao crescimento celular autotrófico (ACIÉN FERNANDEZ *et al.*, 2000):

$$\mu = \mu_{max} \frac{I_{médio}^n}{(I_k^n + I_{médio}^n)} \quad (3)$$

onde μ_{max} é a taxa máxima de crescimento, I_k é uma constante dependente da espécie algica e das condições de cultura a serem utilizadas e, assim como n , pode ser determinado empiricamente. A irradiação no interior da cultura pode ser estimada por:

$$I_{médio} = I_0 / (\varphi_{eq} K_a C_l) \cdot [1 - \exp(-\varphi_{eq} K_a C_l)] \quad (4)$$

onde K_a é o coeficiente de extinção da biomassa, I_0 é a irradiação na superfície da cultura, e φ_{eq} é o comprimento do caminho de luz da superfície até qualquer ponto no interior do reator, que está relacionado com o diâmetro, φ , do reator e com o ângulo de incidência da luz, θ (ACIÉN FERNANDEZ *et al.*, 2000):

$$\varphi_{eq} = \varphi / \cos\theta \quad (5)$$

Um outro modelo alternativo é feito considerando que a fotossíntese ocorra somente nas unidades fotossintéticas das microalgas (PSU), que estariam presentes nas células em quantidade constante e seriam participantes do processo em alternância entre um estado ativo e um estado inativo. A partir deste modelo, a taxa de crescimento celular é fornecida como consequência das reações fisiológicas que ocorrem no interior dos microorganismos. As unidades fotossintéticas são porções onde há o arranjo de receptores de fótons, carreadores de elétrons e enzimas necessárias à produção de NADPH e ATP, de forma que a reação de fotossíntese nestas unidades pode ser descrita como a seguir (CAMACHO RUBIO *et al.*, 2002):





onde a equação (6) expressa a etapa rápida da reação fotoquímica, descrita pela recepção de um fóton, com frequência ν , pela unidade fotossintética inativa representada por A^0 , que é, então, ativada e transformada em A^* . A equação (7) indica a etapa enzimática da reação, lenta e controladora, em que ocorre a desativação da PSU, e há o aproveitamento da energia para o desenvolvimento da célula. Deste modo, aliado à consideração de que para qualquer momento, uma concentração a de PSU permanece constante na célula, sendo a soma de a^0 e a^* , para as unidades inativa e ativa, respectivamente, é possível chegar à conclusão de que a velocidade da reação controladora do processo de produção de óleo é estreitamente relacionada com a concentração de PSU ativas. Não obstante a observação do controle da reação pela etapa da equação (7), a recepção do fóton é descrita como função da iluminação do reator. Estas duas etapas, de captura de luz e de consumo da energia luminosa para produção de do que virá a ser o óleo no interior das células, são descritas, respectivamente, pelas equações (CAMACHO RUBIO *et al.*, 2002):

$$r_1 = K_a \cdot I \cdot a^0 = K_a \cdot I \cdot (a - a^*) \quad (8)$$

$$r_2 = r_m^* \cdot a^* / (K_m^* + a^*) \quad (9)$$

onde a equação (9) é do tipo de Michaelis-Menten, comumente observada em reações enzimáticas. Este modelo leva em conta ainda o fenômeno da foto-inibição, que pode ser entendido como a danificação dos processos de fotossíntese da célula por causa de uma superexposição à luz. Como consequência da foto-inibição, a fim de sobreviver sob condições menos favoráveis, a célula desenvolve mecanismos de manutenção de sua dinâmica interna, que manifestam diferentes padrões de regeneração (CAMACHO RUBIO *et al.*, 2002).

Naturalmente, as diferentes espécies de microalgas reagem de maneiras distintas à foto-inibição com a produção de substâncias em seu citoplasma que objetivam sua própria manutenção como organismo vivo.

Uma das maneiras preferenciais de contornar o problema da foto-inibição é a utilização de ciclos de iluminação ao reator. Os ciclos permitem que a incidência de luz não constante forneça tempo suficiente para que a etapa lenta de fotos-

síntese seja processada, havendo, assim, um foto-período adequado.

Os foto-períodos podem ser micro-foto-períodos, de pouco menos que um segundo (ROSELO SASTRE *et al.*, 2007), bem como foto-períodos de longa duração (JACOB - LOPES *et al.*, 2008), dependendo da espécie de microalga e da alimentação do sistema.

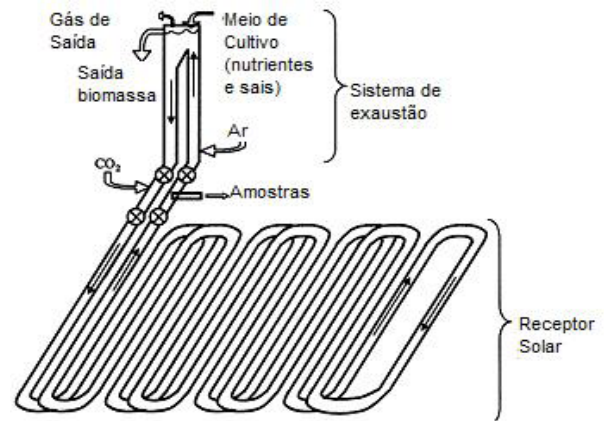


Figura 3 - Esquema de foto-bio-reator com receptor (coletor) solar e sistema de exaustão para crescimento celular

Fonte: Adaptado de Molina *et al.* (2001).

A seguir, são apresentadas figuras de processos de produção de microalgas em larga escala, com aplicações já em andamento em diferentes partes do mundo para a posterior obtenção de biodiesel com preço competitivo face a outros biocombustíveis. Os *raceway ponds* de diferentes tamanhos, conforme mostrados na figura 5, podem ser combinados, salvaguardadas as devidas espécies de microorganismos algícos, para utilizações em etapas finais de tratamento sanitário (SIM *et al.*, 1988).



Figura 4. Foto-bio-reator na Austrália.

Fonte: Chisti (2007)



Figura 5 - Raceway ponds de diferentes tamanhos
Fonte: EUA (2009)

5. MÉTODOS DE SEPARAÇÃO DA MICROALGA DO MEIO

Diversos métodos de separação da microalga do meio de cultivo têm sido descritos na literatura. Os três principais são: centrifugação, filtração através de membranas e floculação (BOSMA *et al.*, 2003). Estes autores propõem a utilização de ultra-som em conjunto com sedimentação para a separação da microalga, obtendo bons resultados em escala laboratorial.

Cravotto *et al.* (2008) estudaram a extração de óleo de microalgas através de ultra-som e microondas, sozinhos ou combinados, obtendo também bons rendimentos. Entretanto, deve-se ressaltar que, em escala industrial, a utilização de centrífugas ainda é a melhor opção, graças às elevadas eficiências e fatores de concentração, além de consumir menos energia.

A microalga *Dunaliella salina* pode ser facilmente separada do meio através de centrifugação, e pode-se obter a massa seca através de secagem por borrifação (LOURENÇO, 2006).

Como o objetivo é a obtenção do óleo *in natura*, o processo de secagem pode ser dispensado, já que o microorganismo em questão não possui parede celular, o que permite que a força centrífuga por si só seja potencialmente suficiente para a extração do óleo. Os principais desafios são: o alinhamento das técnicas de crescimento de microalgas com técnicas de separação do óleo, de modo que a produção seja contínua, bem como a implantação de processos mais avançados, como o uso de ultrassom, em larga escala.

CONCLUSÕES

1. Tendo em vista os meios de produção de microalgas apresentados na tabela 1, observa-se grande vantagem no controle das diversas variáveis de operação em foto-bio-reatores;
2. Além disso, outra grande vantagem dos foto-bio-reatores reside no processo contínuo de crescimento celular, possibilitando a produção de biodiesel também de forma contínua em uma biorrefinaria;
3. Em se tratando dos processos de separação da fase aquosa da biomassa da alga, as operações unitárias que se apresentam são bem desenvolvidas principalmente a utilização de centrífugas, equipamento de domínio tecnológico no Brasil.

Notação:

| | |
|-----------|-----------------------------------------------------------------|
| A^0 | Representação da unidade fotossintética (PSU) inativa |
| A^* | Representação da unidade fotossintética (PSU) ativa |
| A | Concentração total de unidades fotossintéticas, $mol/célula$ |
| A^0 | Concentração de unidades fotossintéticas inativas, $mol/célula$ |
| a^* | Concentração de unidades fotossintéticas ativas, $mol/célula$ |
| C_c | Concentração celular, g/cm^3 |
| C_s | Concentração de substrato, g/cm^3 |
| $h\nu$ | Fóton |
| I | Irradiação, $\mu E/(m^2s)$ |
| I_k | Constante, $\mu E/(m^2s)$ |
| $I_{méd}$ | Irradiação média no interior do reator, $\mu E/(m^2s)$ |
| I_0 | Irradiação na superfície do foto-bio-reator, $\mu E/(m^2s)$ |
| K_a | Coefficiente de extinção de biomassa, m^2/g |
| K_m^* | Constante de Michaelis-Menten ajustada, $mol/célula$ |
| K_s | Constante de Monod, g/cm^3 |
| n | Expoente da equação (3) |
| r_g | Taxa volumétrica de produção celular, $g/(cm^3.s)$ |
| r_1 | Taxa de captura de fóton, $mol/(célula.s)$ |
| r_2 | Taxa de consumo de energia fotoquímica, $mol/(célula.s)$ |
| r_m^* | Taxa máxima de consumo de energia, $mol/(célula.s)$ |
| μ | Velocidade específica de produção celular, s^{-1} |

| | |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| μ_{max} | Velocidade específica máxima de produção celular, s^{-1} |
| φ | Diâmetro da tubulação, m |
| φ_{eq} | Comprimento do caminho percorrido pela luz na tubulação, m |
| θ | Ângulo entre o zênite e a incidência solar, $^{\circ}$ |
| ν | Frequência da radiação eletromagnética luminosa recebida pela PSU, s^{-1} |

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACIÉN FERNANDÉZ, F. G.; FERNANDÉZ SEVILLA, J. M.; SÁNCHEZ PÉREZ, J. A.; MOLINA GRIMA, E.; CHISTI, Y. Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance. *Chemical Engineering Science*, n. 8, v. 56, p. 2721-2732, 2001.
- BARNWAL, B. K.; SHARMA, M. P. Prospects of biodiesel production from vegetable oils in India. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, n. 4, v. 9, p. 368-378, 2005.
- BOSMA, R.; VAN SPRONSEN, W. A.; TRAMPER, J.; WIJFFELS, R. H. Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae. *Journal of Applied Phycology*, n. 2-3, v. 15, p. 143-153, 2003.
- BRASIL. Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/>>. Acesso em: 14/06/2009.
- CAMACHO RUBIO, F.; GARCÍA CAMACHO, F.; FERNÁNDEZ SEVILLA, J. M.; CHISTI, Y.; MOLINA GRIMA, E. A Mechanistic Model of Photosynthesis in Microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, n. 4, v. 81, p. 459-473, 2003.
- ÇELEKLI, A., DÖNMEZ, G. Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and β -carotene accumulation by a new isolate of *Dunaliella* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, n. 2, v. 22, p. 183-189, 2006.
- CHISTI, Y. Biodiesel from Microalgae, *Biotechnology Advances*, n. 3, v. 25, p. 294-306, 2007.
- CRAVOTTO, G.; BOFFA, L.; MANTEGNA, S.; PEREGO, P.; AVOGADRO, M.; CINTAS, P. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, n. 5, v. 15, p. 898-902, 2008.
- EUA. U.S. Department of Energy. Disponível em: <<http://www1.eere.energy.gov/biomass/>>. Acesso em 10/06/2009.
- FOGLER, H. S. *Elementos de Engenharia das Reações Químicas*. Terceira edição, Rio de Janeiro: LTC, 2002.
- HENRIQUES, N. M.; NAVALHO, J. C.; VARELA, J. C.; CANCELA M. L. *Dunaliella*: uma fonte natural de β -caroteno com potencialidades de aproveitamento biotecnológico. *Boletim de Biotecnologia*, n. 61, p. 12-18, 1998.
- JACOB-LOPES, E.; SCOPARO, C. H. G.; LACERDA, L. M. C. F.; FRANCO, T. T. Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. *Chemical Engineering and Processing*, n. 1, v. 48, p. 306-310, 2008.
- KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J. *The Biodiesel Handbook*. Champaign, Illinois: AOCS Press. 2005.
- LOURENÇO, S. O. *Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações*. São Carlos: RiMa Editora. 2006.
- MOLINA, E.; FERNÁNDEZ, J.; ACIÉN, F. G.; CHISTI, Y. Tubular photobioreactor design for algal cultures. *Journal of Biotechnology*, n. 2, v. 92, p. 113-131, 2001.
- ROSELO SASTRE, R.; CSÖGÖR, Z.; PERNER-NOCHTA, I.; FLECK-SCHNEIDER, P.; POSTEN, C. Scale-down of microalgae cultivations in tubular photo-bioreactors – A conceptual approach. *Journal of Biotechnology*, n. 2, v. 132, p. 127-133, 2007.
- SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of Vegetable Oils: a Review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, n. 3, v. 9, p. 199-210, 1998.

SILVA, P. R. F.; FREITAS, T. F. S. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. *Ciência Rural*, Santa Maria, n. 3, v. 38, p. 843-851, 2008.

SIM, T.-S.; GOH, A.; BECKER, E. W. Comparison of Centrifugation, Dissolved Air Flotation, and Drum Filtration Techniques for Harvesting Sewage-grown Algae. *Biomass*, n. 1, v. 16, p. 51-62, 1988.

VISMARA, R.; VESTRI, S.; BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. Diet-induced variations in fatty acid content and composition of two on-grown stages of *Artemia salina*. *Journal of Applied Phycology*, n. 6, v. 15, p. 477-483, 2003.