

## **Avaliação do rendimento de biomassa e lipídeos empregando diferentes regimes de cultivo em *Scenedesmus* sp.**

Evaluation of biomass and lipid yield using different cultivation regimes in *Scenedesmus* sp.

Evaluación del rendimiento de biomasa y lípidos utilizando diferentes regímenes de cultivo en *Scenedesmus* sp.

Recebido: 09/12/2021 | Revisado: 15/12/2021 | Aceito: 24/12/2021 | Publicado: 04/01/2022

### **Witter Duarte Guerra**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9155-8047>  
Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
E-mail: [witter\\_guerra@yahoo.com.br](mailto:witter_guerra@yahoo.com.br)

### **Flávia Costa Oliveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5599-6242>  
Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
E-mail: [flaviacosta.iub@hotmail.com](mailto:flaviacosta.iub@hotmail.com)

### **Jaqueline Elise Garcia Chiesa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3767-0900>  
Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
E-mail: [jaquelineelisegarcia@hotmail.com](mailto:jaquelineelisegarcia@hotmail.com)

### **Isabela de Souza Dias**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2574-0833>  
Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
E-mail: [isabeladias97@gmail.com](mailto:isabeladias97@gmail.com)

### **Andressa Tironi Vieira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3662-1346>  
Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
E-mail: [dessatironi@yahoo.com.br](mailto:dessatironi@yahoo.com.br)

### **Wesley da Silva Borges**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9606-0758>  
Instituto Luterano de Ensino Superior de Itumbiara, Brasil  
E-mail: [wesley.itb@gmail.com](mailto:wesley.itb@gmail.com)

### **Alexandre Sylvio Vieira da Costa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7251-7816>  
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Brasil  
E-mail: [alexandre.costa@ufvjm.edu.br](mailto:alexandre.costa@ufvjm.edu.br)

### **Anízio Marcio de Faria**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6915-8963>  
Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
E-mail: [anizio@ufu.br](mailto:anizio@ufu.br)

### **Antônio Carlos Ferreira Batista**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6313-4565>  
Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
E-mail: [batistaacf@ufu.br](mailto:batistaacf@ufu.br)

### **Resumo**

A busca por fontes renováveis de biocombustíveis vem crescendo a cada dia. Como exemplo temos o biodiesel, um combustível não fóssil que pode substituir total ou parcialmente o diesel de petróleo sem a necessidade de adaptação. Microalgas podem ser utilizadas como matéria prima para a produção de biodiesel devido à sua taxa de crescimento e também por possuir elevados rendimentos de lipídios, além de grande capacidade de desenvolver em diferentes ambientes. A utilização de microalgas para produção de biocombustíveis pode ser uma alternativa potencial e econômica em relação as outras fontes de combustíveis. Além do alto conteúdo de lipídios e carboidratos, elas apresentam um rápido crescimento e alta eficiência na fixação de CO<sub>2</sub>. Desta forma este trabalho teve como objetivo cultivar a microalga *Scenedesmus* sp., em diferentes regimes analisando as melhores condições para produção de bio-óleo. Os ensaios foram realizados variando o meio de cultivo, luminosidade, reator, dias de cultivo e aeração do ambiente totalizando 16 ensaios. Após a realização do experimento definiu-se que o melhor regime de cultivo das microalgas visando porcentagem de óleo foi utilizando inoculo de 20% do volume útil em um reator horizontal, com meio de cultivo CHU e intensidade luminosa máxima com três lâmpadas do tipo “luz do dia”, e duração de 30 dias, com aeração e sem adição de vitaminas. Os efeitos associados da aeração, luminosidade, tempo de cultivo e meio de cultura, apresentaram maior influência na produção de lipídeos.

**Palavras-chave:** Microalgas; Otimização; Produção; Rendimento; Lipídeos; Biomassa.

### Abstract

The search for renewable sources of biofuels is growing every day. As an example, we have biodiesel, a non-fossil fuel that can totally or partially replace petroleum diesel without the need for adaptation. Microalgae can be used as raw material to produce biodiesel due to its growth rate and for having high lipid yields, in addition to its great capacity to develop in different environments. The use of microalgae to produce biofuels can be a potential and economical alternative in relation to other fuel sources. In addition to the high content of lipids and carbohydrates, they show rapid growth and high efficiency in fixing CO<sub>2</sub>. Thus, this work aimed to cultivate the microalgae *Scenedesmus* sp. in different regimes, analyzing the best conditions to produce bio-oil. The tests were carried out varying the culture medium, light, reactor, days of cultivation and aeration of the environment, totaling 16 tests. After carrying out the experiment it was decided that the best microalgae cultivation regime aiming at a percentage of oil was using an inoculum of 20% of the useful volume in a horizontal reactor, with CHU culture medium and maximum light intensity with three "light" lamps how daylight, and duration of 30 days, with aeration and without vitamins addition. The associated effects of aeration, luminosity, cultivation time and growth medium, had a greater influence on the production of lipids.

**Keywords:** Microalgae; Optimization; Production; Performance; Lipids; Biomass.

### Resumen

La búsqueda de fuentes renovables de biocombustibles crece día a día. Como ejemplo tenemos el biodiésel, un combustible no fósil que puede sustituir total o parcialmente al diésel de petróleo sin necesidad de adaptación. Las microalgas pueden utilizarse como materia prima para la producción de biodiesel por su tasa de crecimiento y también por tener altos rendimientos de lípidos, además de su gran capacidad para desarrollarse en diferentes ambientes. El uso de microalgas para la producción de biocombustibles puede ser una alternativa potencial y económica en relación con otras fuentes de combustible. Además del alto contenido de lípidos y carbohidratos, muestran un rápido crecimiento y una alta eficiencia en la fijación de CO<sub>2</sub>. Así, este trabajo tuvo como objetivo cultivar la microalga *Scenedesmus* sp., En diferentes regímenes, analizando las mejores condiciones para la producción de bioaceite. Las pruebas se realizaron variando el medio de cultivo, luz, reactor, días de cultivo y aireación del ambiente, totalizando 16 pruebas. Luego de realizar el experimento, se determinó que el mejor régimen de cultivo de microalgas para porcentaje de aceite fue utilizar un inóculo del 20% del volumen útil en un reactor horizontal, con medio de cultivo CHU y máxima intensidad lumínica con tres lámparas "light" tipo el día, y duración de 30 días, con aireación y sin adición de vitaminas. Los efectos asociados de aireación, luminosidad, tiempo de cultivo y medio de cultivo, tuvieron una mayor influencia en la producción de lípidos.

**Palabras clave:** Microalgas; Mejoramiento; Producción; Rendimiento; Lípidos; Biomasa.

## 1. Introdução

Atualmente pesquisadores tem se preocupado com as questões ambientais, devido a alguns fatores de grande importância, um deles se refere ao imenso consumo de combustíveis fósseis para atender a necessidade de energia causando grandes problemas ambientais (Lima, Porto & Freitas, 2018).

Com o grande consumo, a necessidade de outras formas de energia se torna necessárias. Fontes alternativas de energia são pesquisadas em todo o mundo visando encontrar uma solução para tal problema. Uma das alternativas para que a poluição possa ser reduzida em nível global é a substituição do petróleo. A preocupação com a poluição ambiental e a emissão dos gases do efeito estufa na atmosfera reforçam cada vez mais a importância da produção e comercialização dos biocombustíveis (Galina *et al.*, 2020).

A busca por fontes que podem ser consideradas renováveis para a produção de biocombustíveis crescem a cada dia no mundo. Essa busca da sociedade se deve principalmente devido aos problemas ambientais, como as emissões de gases que são oriundos da queima de combustíveis fósseis. O fornecimento de combustíveis não renováveis como o petróleo exigem novas descobertas de fontes alternativas que devem ser renováveis e sustentáveis (Silva *et al.*, 2019).

Dessa forma, biocombustíveis produzidos a partir de algas (ou microalgas) surgem como uma nova alternativa, ganhando espaço no mercado, considerando seus inúmeros benefícios como sustentabilidade, fácil reprodutibilidade e ambiente favorável ao cultivo. A partir da biotecnologia, o desenvolvimento de metodologias eficazes ajudará os biocombustíveis a ocupar espaço no mercado com fonte sustentável. A cultura de algas depende da eficiência com que converte a luz solar em biomassa e lipídios (Benedito, Porto & Freitas, 2019).

Visando avaliar o desempenho das microalgas, o presente trabalho teve como objetivo cultivar a espécie de microalga *Scenedesmus* sp. e seu potencial metabólico empregando diferentes regimes de cultivo avaliando o aumento na eficiência de produção de lipídeos e biomassa.

## 2. Metodologia

Para a produção de lipídeos a partir de microalgas foi utilizada uma espécie de *Scenedesmus*. Todos os testes com as culturas foram realizados no laboratório de biocombustíveis green chemistry (LABIOGREENC), da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Pontal em Ituiutaba–MG. As amostras de *Scenedesmus* sp. foram cedidas pelo Instituto Luterano de Ensino Superior de Itumbiara – ILES/ ULBRA, curso de Química – Itumbiara – GO. As microalgas foram mantidas em um sistema de cultivo dotadas de um fotoperíodo de 12 horas e temperatura ambiente próxima a 25°C.

Para determinar as condições ótimas de produção de biomassa e crescimento das microalgas, foi empregado um planejamento fatorial fracionário (PFF), uma ferramenta estatística que possibilita a determinação das variáveis experimentais que afetam, de forma importante e significativa, o rendimento de lipídeos no crescimento das microalgas. A Tabela 1 apresenta as variáveis e os níveis estudados no PFF 2<sup>5-1</sup>.

**Tabela 1** - Variáveis e níveis estudados no crescimento de microalgas (*Scenedesmus* sp.)

	Variáveis	Níveis	
		( + )	( - )
A	Meio de cultivo	Guillard	Chu
B	Quantidades de lâmpadas	3	2
C	Tipos de reatores	Horizontal	Vertical
D	Dias de cultivo	30 dias	15 dias
E	Presença de aeração	Não	Sim

Fonte: Autores (2021).

Barros Neto *et al.* (2001) afirmam que a organização do planejamento fatorial deve obedecer às relações geradoras que, por sua vez, deverá apresentar o número de fatores que compõem o termo mais curto presente nessas relações que é, por definição, a resolução do planejamento. Dessa maneira o planejamento fatorial fracionário foi definido como 2<sup>5-1</sup>. Foram realizados 16 experimentos, com a relação geradora, ou seja, a variável teve sua geração baseada na interação AxBxCxDxE. A matriz de planejamento é apresentada na Tabela 2.

**Tabela 2** - Matriz de planejamento fatorial fracionário  $2^{5-1}$ .

Ensaio	A	B	C	D	E
1	-	-	-	-	-
2	+	-	-	-	+
3	-	+	-	-	+
4	+	+	-	-	-
5	-	-	+	-	+
6	+	-	+	-	-
7	-	+	+	-	-
8	+	+	+	-	+
9	-	-	-	+	-
10	+	-	-	+	+
11	-	+	-	+	-
12	+	+	-	+	-
13	-	-	+	+	+
14	+	-	+	+	-
15	-	+	+	+	-
16	+	+	+	+	+

A: meio de cultivo, B: quantidade de lâmpadas, C: tipo de reator, D: dias de cultivo, E: Presença de aeração.  
 Fonte: Autores (2021).

Os ensaios foram realizados aleatoriamente mantendo a conformação do planejamento fracionário  $2^{5-1}$ , apresentado na Tabela 2. Cada linha da Tabela 2 correspondeu a uma combinação dos níveis das 5 variáveis estudadas, tendo dessa forma 16 respostas para rendimento de biomassa, porcentagem de óleo e crescimento celular sob condições diferentes. Nesta primeira etapa da otimização, a finalidade foi selecionar as variáveis que mais afetam a porcentagem de lipídeos na produção das microalgas. Com os resultados de porcentagem de lipídeos obtidos, os efeitos de cada variável na resposta foram calculados segundo as diferenças entre as médias aritméticas de porcentagem de lipídeos em cada nível estudado (-) e (+) de acordo com a Equação 1.

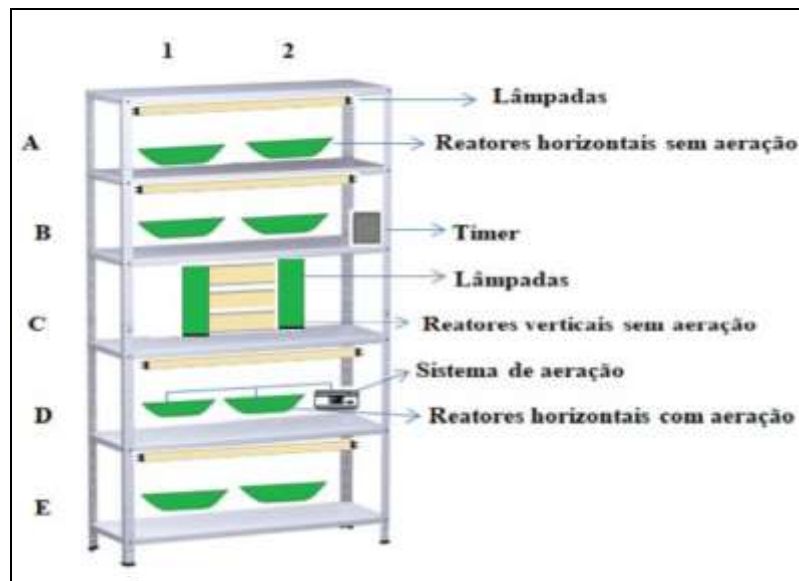
$Ef(i) = \text{Média das respostas no nível (+)} - \text{média das respostas no nível (-)}$

Equação 1.

Em que:  $Ef(i)$ : efeito da variável  $i$ , nível (+) e nível (-) são as condições experimentais de cada variável de acordo com a Tabela 1.

As microalgas foram dispostas em cinco prateleiras, distribuídas uniformemente e iluminadas com 3 lâmpadas do tipo “luz do dia”, com fotoperíodo de 12/12 h. Os reatores horizontais estavam dispostos nas prateleiras A, B, D e E, e as lâmpadas localizadas na parte superior de cada um dos suportes. Os reatores verticais estavam dispostos na prateleira C e as lâmpadas na parte posterior dos reatores como apresentado na Figura 1.

**Figura 1-** Esquema da unidade experimental de cultivo



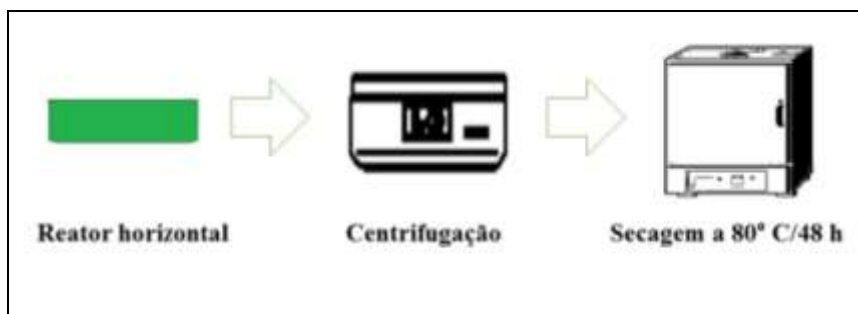
Fonte: Autores (2021).

O ajuste de tempo para exposição luminosa foi adequado em um “Timer” situado na prateleira B da unidade de cultivo. O fotoperíodo foi de 12/12h luz/escuro de acordo com Cartas (2018). O sistema de aeração tinha como objetivo fazer a homogeneização do meio com as microalgas mediante agitação constante.

Para realizar o crescimento das microalgas, o planejamento experimental foi realizado, visando, inicialmente, verificar quais as variáveis experimentais que mais afetam o crescimento das algas e, em seguida, estabelecer os níveis ótimos dessas variáveis. As condições experimentais estudadas foram definidas de acordo com o disposto na literatura realizando comparações entre as variáveis: meio de cultivo Guillard (1975) ou o meio Chu (Chu, 1942; Dario *et al.*, 2016); unidade experimental dotada de três lâmpadas fluorescentes do tipo “luz do dia” em todas as prateleiras ou duas lâmpadas com fotoperíodo de 12/12 horas luz/escuro; reatores foram utilizados de acordo com Borges (2014), utilizando os reatores horizontais do tipo bandeja (Prateleiras A, B, D e E) e reatores verticais (Prateleira C) de acordo com a Figura 1; dias de cultivo: 15 dias ou 30 dias; ambientes dispostos com reatores com aeração ou sem aeração.

Os reatores horizontais e verticais eram fechados com filme plástico de PVC para diminuir a evaporação da água dos meios de cultivo, tipo coberto. O volume total dos reatores horizontais era de 1,5 litros e o dos reatores verticais era de 2,5 litros, porém foram utilizados em ambos o volume útil total de 1 litro. Após a finalização dos dias de cultivo adotados pelo modelo experimental, as amostras dos reatores foram centrifugadas em sua totalidade pelo sistema da marca *Aaker*, utilizando um campo centrífugo de 7808 g por minuto. Seguindo o modelo experimental de Borges (2014) as amostras foram retiradas e colocadas em um béquer previamente pesado e todo o material levado para a secagem em uma estufa por 48 h a 80 °C. Posteriormente, o material foi novamente pesado, para obter a determinação da biomassa final como mostra a Figura 2.

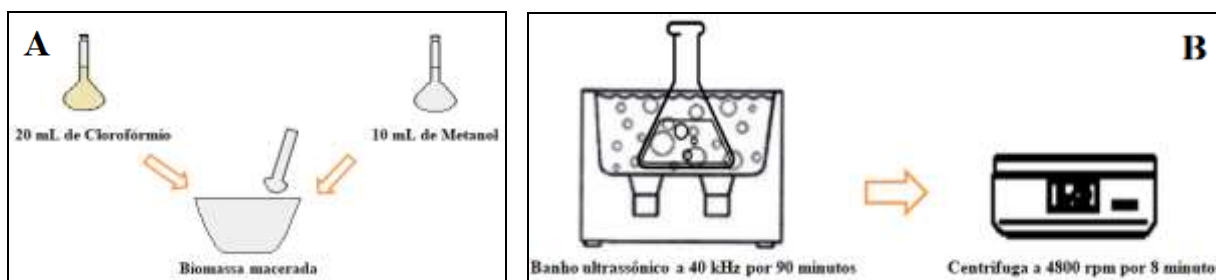
**Figura 2** - Determinação da biomassa seca.



Fonte: Autores (2021).

Folch *et al.* (1957) apresentam um método de determinação da quantidade de óleo e teor de lipídeos que foi descrito posteriormente por Oliveira (2019) e adotado neste trabalho. A biomassa depois de seca foi macerada com 20 mL de clorofórmio e 10 mL de metanol, como mostra a Figura 3A. A mistura obtida resultante da biomassa macerada com metanol e clorofórmio, foi colocada em um erlenmeyer de 250 mL e levado ao banho ultrassônico (*Quimis*) a 40 kHz por 90 min, Figura 3B. Posteriormente, a amostra foi colocada em tubos de centrifugação do tipo Falcon e submetida a centrifugação a 4800 rpm por 8 min.

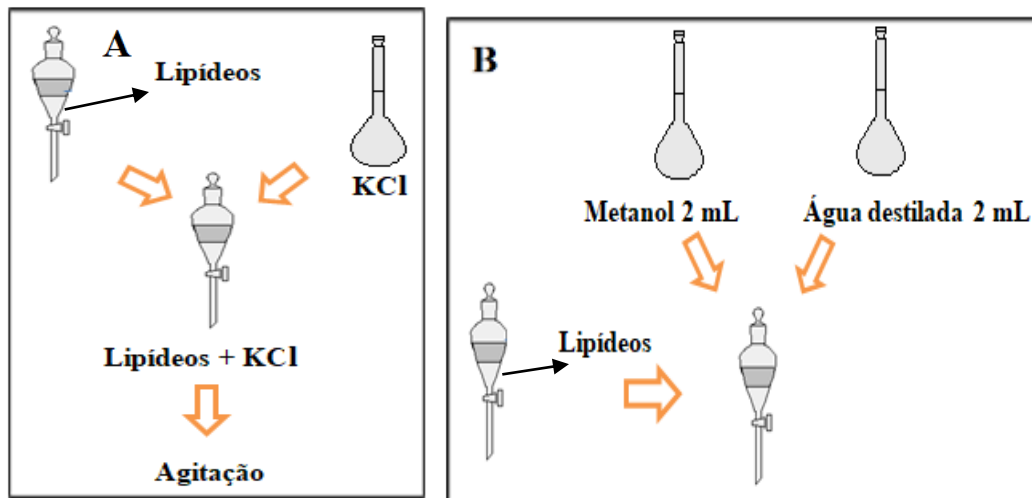
**Figura 3** - Procedimento inicial para determinação da quantidade de óleo e lipídeos: maceração da biomassa com reagentes específicos (A), processo de banho e centrifugação do material obtido (B).



Fonte: Autores (2021).

Após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado e alocado em funil de separação e adicionadas à mistura 6 mL de solução KCl 0,88 % (Figura 4A). A solução passou por uma agitação com a formação de duas fases. A fase inferior contendo os lipídeos e a fase superior hidrofóbica. Posteriormente, foram adicionados aos lipídeos 2 mL de metanol e 2 mL de água destilada seguida de agitação.

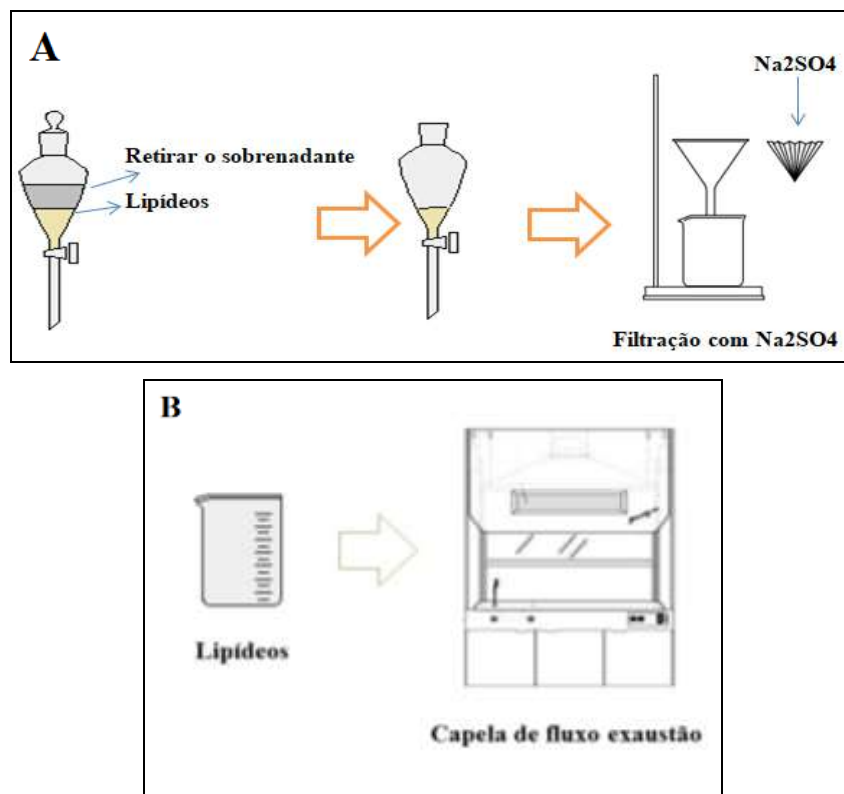
**Figura 4** - Procedimento para determinação da quantidade de óleo e lipídeos: adição de KCl (A), acréscimo de metanol e água destilada (B).



Fonte: Autores (2021).

Novamente, o sobrenadante foi retirado e a fase excedente foi filtrada com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e disposto em um béquer previamente pesado (Figura 5A). Posteriormente, o béquer foi colocado em uma capela de exaustão onde o solvente residual que restava no béquer passou pelo processo de evaporação por 48 h e os lipídeos restantes no béquer pesados e contabilizados como teor de óleo final.

**Figura 5** - Procedimento final de extração de óleo: filtração com sulfato de sódio anidro (A) e evaporação dos solventes em uma capela de exaustão (B)



Fonte: Autores (2021).

Para determinar o teor de óleo final em porcentagem da massa foi adotada a Equação 2.

$$TL(\%) = (MO / MB) \times 100$$

Equação 2

Em que: TL: teor de lipídeos, expressa em porcentagem (%); MO: massa de óleo produzida, expressa em gramas (g); MB: massa da biomassa, presente em 1 L de meio de cultivo (g).

### 3. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos no experimento do planejamento fatorial fracionário, com relação ao teor de lipídeos, quantidade de óleo produzido e biomassa seca dos reatores verticais e horizontais estão apresentados na Tabela 3. Com base nos resultados apresentados verifica-se que os maiores valores dispostos em porcentagem para rendimento de óleo são com os reatores dotados de aeração, nos ensaios 1, 4, 6, 9, 12, 14 e 15, com os valores de 17,99 %, 14,17 %, 12,56 %, 18,19 %, 15,53 %, 13,34 % e 19,84 %, respectivamente. Porém deve-se salientar que alguns reatores específicos como os reatores 5 (11,31 %) e 11 (12,71 %) apresentaram bons resultados em rendimento de óleo mesmo sem a presença de aeração.

**Tabela 3** - Resultados para o teor de lipídeos, quantidade de óleo produzido e biomassa para *Scenedesmus* sp.

Ensaio	Biomassa seca (g L <sup>-1</sup> )	Quantidade de óleo produzido por reator (g)	Teor de lipídeos extraído das células (%)
1	0,5529	0,0994	17,99
2	0,7084	0,0630	8,90
3	1,4250	0,1054	7,39
4	0,1834	0,0026	14,17
5	1,0280	0,1162	11,31
6	0,1489	0,0187	12,56
7	1,8130	0,1426	7,87
8	1,2532	0,0892	7,12
9	1,6441	0,2990	18,19
10	0,6387	0,0378	5,92
11	1,2533	0,1593	12,71
12	1,0951	0,1700	15,53
13	0,9728	0,0603	6,20
14	0,7602	0,1014	13,34
15	0,6154	0,1220	19,84
16	1,2931	0,1073	8,30

Fonte: Autores (2021).

De acordo com Borges (2014) valores acima de 10 % de teor de lipídeos extraído das células são valores aceitáveis quando existe uma otimização de processos de cultivo de microalgas. Dessa forma, para um melhor aprimoramento da otimização dos processos de cultivo, os resultados e estudos das variáveis foram otimizados para melhores resultados. Posteriormente, foram realizados os cálculos dos efeitos das variáveis estudadas e suas interações sobre o teor de lipídeo, conforme a Matriz Z do planejamento apresentada na Tabela 3. As respostas deste experimento foram para porcentagem de

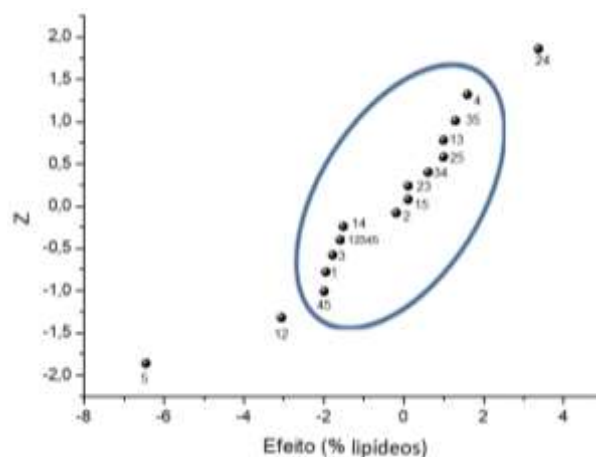


lipídeos extraído das células. Posteriormente foi realizada a matriz de planejamento de experimentos realizada para a otimização dos processos de produção de lipídeos por reator extraído das células.

Para a construção do gráfico Z (Figura 6) foram calculadas as interações entre os efeitos resultando em um total de 16 efeitos. Nos cinco principais, as interações de dois fatores, interação de três fatores e uma interação entre os cinco fatores. Barros Neto *et al.* (2001) afirmam que para se realizar os cálculos de efeitos de interação entre as variáveis, multiplica-se os sinais dos níveis de cada elemento, realizando as interações pela multiplicação de duas em duas e depois das demais. Os efeitos das interações principal, entre dois fatores, entre três fatores e entre todos os fatores que estão apresentados na Figura 6.

De acordo com os valores de efeito, a presença de aeração, dentro do estudo apresentou uma maior influência na produção de lipídeos para o cultivo de microalgas. Em sequência o efeito de interação luminosidade e tempo de cultivo (Efeito 24), e o efeito de interação de meio e luminosidade. Os demais efeitos apresentam menor influência em relação a produção de lipídeos.

**Figura 6** - Gráfico normal de efeitos para a produção de lipídeos em cultivo de microalgas.



1= meio de cultivo, 2= luminosidade, 3= tipo de reator, 4= tempo de cultivo, 5= presença de aeração  
Fonte: Autores (2021).

Vieira, Assunção & Faria (2018), afirmam que os valores de efeitos mais dispersos de um valor padronizado (Z) igual a zero são estatisticamente significativos, e aqueles que se aproximam deste valor não possuem influência significativa na resposta. No círculo estão os valores de efeito menos significativos, incluindo as variáveis meio de cultura, tempo e luminosidade.

A partir das respostas obtidas no planejamento experimental com os melhores resultados fica evidente que a variável 1 (meio de cultivo), obteve o valor de -1,95, ou seja, o meio de cultivo Chu influencia positivamente o rendimento de lipídeos para o cultivo de microalgas. A variável 2 (Luminosidade) apresentou o valor de -0,19, o que demonstra que a incidência luminosa com maior (3 lâmpadas) ou menor (2 lâmpadas) não foi significativa para os resultados. A variável 3 (Reator) teve como resposta o valor de -1,78, o que demonstra que o reator vertical causou uma maior influência no rendimento de lipídeos que o reator horizontal. O fator tempo ficou com o valor de 1,59 onde a maior quantidade de dias de cultivo foi melhor para a resposta final.

Dentre todas as variáveis discretas que este trabalho avaliou, a que mais se destacou foi a variável 5 (Aeração) que se encontra com valor negativo no gráfico normal de efeitos o que significa que a presença de aeração se faz necessária e que ela é altamente eficaz na resposta do experimento em porcentagem de lipídica. A luminosidade e o tempo de cultivo (24) apresentam os efeitos de interação com valor positivo, ou seja, o cultivo de 30 dias com uma maior incidência de luz pode

favorecer o metabolismo de lipídeos. Os efeitos de interação entre o meio e a luminosidade (12) estão representados com valores negativos o que demonstram que a maior luminosidade em menor tempo de cultivo apresentou resultados também promissores.

#### 4. Conclusão

A partir dos resultados do planejamento fracionário  $2^{5-1}$  é possível concluir que a otimização dos reatores se faz necessária pois alguns resultados ainda podem ser melhorados visto que a espécie de microalga *Scenedesmus* sp., pode ter um rendimento de óleo superior a 30 %, onde a literatura apresenta bons resultado de rendimento de óleo a partir de 10% podendo superar os 30 %. Ficou claro, a partir dos resultados obtidos, que os reatores dotados de aeração obtiveram valores superior a quase todos os reatores sem aeração com valores de 7,12 % até valores com 19,84 %. O efeito reator não apresentou grande influência em relação a resposta dos experimentos o que demonstra que a utilização dos reator horizontal ou vertical para o cultivo da microalga *Scenedesmus* sp. é facultativo para massa de lipídeos, porém o reator vertical apresenta maior valor de efeito -1,78. Pode-se notar que os efeitos aeração (-), luminosidade e tempo (+), meio e luminosidade (-), apresentaram uma maior influência na produção de lipídeos em relação aos outros 13 efeitos e que continuar o cultivo utilizando a otimização dos resultados positivos até o momento pode acarretar em uma maior influência positiva na resposta para produção de lipídeos. Mais testes ainda precisam ser feitos para que se possa determinar os melhores parâmetros de cultivo para a microalga *Scenedesmus* sp., pois sabe-se que a incorporação de algumas variáveis podem aumentar gradativamente o valor de porcentagem de lipídeos, tais como temperatura e adição de vitaminas nos regimes de cultivo.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - código de financiamento 001.

#### Referências

- Barros Neto, B.; Scarminio, I. S. & Bruns, R. E. (2001). *Como fazer experimentos: pesquisas e desenvolvimento na ciência e na indústria*. Editora da Unicamp.
- Benedito, V. M.; Porto, P. S. S. & Freitas, R. R. (2019). Modelagem do crescimento de microalgas: Um estudo bibliométrico. *Research, Society and Development*, 8 (1), e681511. <https://doi.org/10.33448/rsd-v8i1.511>
- Borges, W. S. (2014). Produção de bio-óleo empregando microalgas em diferentes meios de cultivo. Tese (Doutorado em Engenharia Química: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- Cartas, L. C. (2018). *Isolamento e cultivo de microalgas em resíduo líquido do processamento da mandioca: manipueira*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, Brasil.
- Chu, S. P. (1942). The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. *Journal of Ecology*, 30 (2), 284-325. <https://doi.org/10.2307/2256574>
- Dario, P. P.; Balmant, W.; Lírio, F. R.; Ramos, L. P.; Blanco, J. G.; Sugai, D. Y.; Vargas, J. V. C.; Santos, B. & Mariano, A. B. (2021). Lumped intracellular dynamics: Mathematical modeling of the microalgae *Tetrademus obliquus* cultivation under mixotrophic conditions with glycerol. *Algal Research*, 57, 102344. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102344>
- Folch, J.; Lees, M. & Stanley, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total de lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Galina, D.; Benedito, V. M.; Freitas, R. R. & Porto, P. S. S. (2020). Análise da influência da temperatura e do tempo na transesterificação direta da *Nannochloropsis Oculata* para produção de biodiesel. *Research, Society and Development*, 9 (7), e655974648. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4648>
- Guillard R. R. L. (1975). *Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates*. In: Smith W.L., Chanley M.H. (eds) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3)
- Lima, K. F. F.; Porto, P. S. S. & Freitas, R. R. (2018). Métodos de extração de bio-óleo a partir da microalga *Nannochloropsis oculata*: uma análise bibliométrica. *Research, Society and Development*, 7 (6), e976190. <https://doi.org/10.17648/rsd-v7i6.259>

Oliveira, F. C. (2019). *Otimização de produção de biomassa para extração lipídica utilizando estirpes da microalga Scenedesmus sp.* Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil. <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/27314>

Silva, G. C.; Santos, A. J. F.; Bredda, E. H. & Da Rós, P. C. M. (2019). Otimização das condições de cultivo da microalga *Nannochloropsis gaditana* e caracterização do óleo obtido. *Brazilian Journal of Development*, 4 (6), 2730-2749. <https://doi.org/10.34117/bjdv5n6-1672>

Vieira, A. T.; Assunção, R. M. N. & Faria, A. M. (2018). Stationary phase based on cellulose dodecanoate physically immobilized on silica particles for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1572, 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.08.048>