

IMPORTÂNCIA DO NITROGÊNIO NO DESENVOLVIMENTO DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA)

AUTOR

Thalita Capelassi de Queiroz LEME

Discente do Curso de Engenharia de Química- UNILAGO

Maria Angélica Marques PEDRO

Janaína Pires BORGES

Docente do Curso de Engenharia de Química- UNILAGO

RESUMO

O controle do teor de nitrogênio é essencial na produção de ácidos graxos, especialmente o ácido docosa-hexaenoico (DHA), a partir de microalgas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar a importância do nitrogênio no processo de desenvolvimento das microalgas para a produção de biomassas ricas em ácido docosahexaenoico (DHA). A determinação da quantidade ideal de nitrogênio nos meios de cultivo dessas microalgas é crucial, pois influencia diretamente a produtividade das espécies microalgais e a obtenção dos ácidos graxos. Esses fatores são inversamente proporcionais e a importância do nitrogênio na produção de DHA em microalgas está relacionada à síntese de ácidos graxos insaturados da série ômega-3. Estudos mostram a disponibilidade adequada de nitrogênio pode maximizar a produção de lipídeos. Embora não tenham sido utilizados estudos específicos para a produção de DHA, as espécies analisadas neste trabalho sintetizam ácidos graxos insaturados como o ácido docosahexaenoico. O DHA possui grande visibilidade no mercado comercial, sendo uma fonte sustentável essencial para a saúde humana e animal. Ele contribui economicamente para a produtividade e qualidade dos produtos aquáticos, como na aquicultura.

PALAVRAS - CHAVE

Nitrogênio; Microalgas; Nitrogênio; Metabolismo; Docosahexaenoico.

1 INTRODUÇÃO

As microalgas podem ser cultivadas em larga escala nas indústrias. Elas têm sido um assunto muito comentado por produzir biomassa com compostos de alto valor agregado no mercado comercial, além de ser uma fonte sustentável, contribuindo para o desenvolvimento de tecnologias limpas (FREITAS, 2009).

As microalgas são uma fonte promissora de compostos bioativos naturais, com aplicações em diversas áreas, incluindo nutrição, farmacêutica, cosmética e produção de biocombustíveis (MINELLO, 2022). Entre os pigmentos produzidos pelas microalgas, destacam-se as clorofilas, carotenóides e ficobiliproteínas, que possuem aplicações em alimentos, cosmética e como antioxidante. Além disso, as microalgas acumulam lipídios, carboidratos e proteínas, que podem ser utilizados na produção de biocombustíveis, alimentos funcionais e suplementos nutricionais (VICTOR; MOUTINHO; RIATTO, 2023).

Ácidos graxos, como o ômega-3, são utilizados para alimentação animal em especial para dietas de peixes melhorando o crescimento saudável deles, fortalecendo o sistema imunológico, aliviando o estresse, melhorando a fertilidade e qualidade dos ovos e o beneficiamento no consumo humano de carnes ricas em nutrientes. Isso explica as microalgas serem fontes alternativas de alimentos para aquicultura, não sobrecarregando a pesca de peixes menores, que é um risco para o estoque global de peixes (CARDOSO, 2018)

Para a produção, em especial, do ácido docosahexaenoico (DHA) (ômega-3) a partir de microalgas é importante conhecer os diversos fatores que influenciam no crescimento desses microrganismos, como a luz, temperatura, nutrientes, pH, salinidade, gases, agitação e contaminação. O nitrogênio é um dos fatores essenciais para o crescimento das microalgas, devendo ser inserido durante o processo em proporções adequadas ao objetivo do cultivo (PEDRUZI *et al.*, 2018). Embora o nitrogênio seja importante para o crescimento das microalgas e composição bioquímica da biomassa, com o seu déficit as microalgas entram em estado de estresse, redirecionando o seu metabolismo para a produção de lipídios (incluindo ácidos graxos) no interior de suas células (YAP *et al.*, 2016). A privação de nitrogênio no meio de cultivo é uma estratégia utilizada para maximizar a produção de triglicéridos (TG), ricos em DHA.

O objetivo deste trabalho foi estudar a importância da concentração de nitrogênio no processo de desenvolvimento das microalgas para a produção de biomassas ricas em ácido docosahexaenoico (DHA).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção de ômega 3 a partir da biomassa de microalgas

A produção de biomassa como fonte de ômega 3 para ração animal a partir de microalgas é realizada em etapas. Primeiramente as microalgas são selecionadas, em seguida são cultivadas em biorreatores ou sistemas abertos e posteriormente são secas.

Para que as espécies de microalgas sejam selecionadas é necessário determinar o composto de interesse a ser obtido, pois possuem diversas espécies com diferentes aplicações biotecnológicas, sendo que a composição bioquímica varia muito de um grupo para o outro. Além disso, os meios de cultivo a serem utilizados, a esterilização do meio para que não tenha competitividade com outras espécies, e os fatores como, disponibilidade de nutrientes e temperatura também influenciam na composição bioquímica da espécie (SOUTO *et al.*, 2014).

É necessário a caracterização inicial desses microrganismos em laboratórios com menores quantidades para conhecer as condições de cultivo mais adequada para o desenvolvimento ideal em produções de largas

escalas industriais. Nas empresas são realizados muitos testes pelo setor de tecnologia para um melhor processo de produção e obtenção desses produtos (ROMERAL *et al.*, 2017).

Na produção de ômega 3 para ração animal o meio de cultivo pode ser seco em tambores rotativos de 120°C formando uma farinha de cor amarelada/amarronzada, contendo óleo rico em ômega 3 encapsulado. Esse produto serve como matéria-prima (suplemento alimentar) para empresas fabricantes de rações animais, especialmente rações de peixes.

2.1.1 Espécies de microalgas utilizadas na produção de DHA

As microalgas são algas microscópicas unicelulares podendo ser procariontes ou eucariontes. A maioria das espécies de microalgas de interesse para a produção de pigmentos, proteínas, lipídeos e bioenergia (biodiesel e biogás) está distribuída nos domínios Eubacteria e Eucarya, especialmente dentro dos grupos cianófitas e clorófitas (SOUTO *et al.*, 2014).

O cultivo de microalgas continentais tem ganhado destaque devido às suas diversas aplicações biotecnológicas, incluindo a produção de compostos de alto valor agregado, como o ácido docosa-hexaenoico (DHA) (SOUTO *et al.*, 2014). Gêneros como *Schizochytrium* e *Aurantiochytrium* fazem parte do grupo dos Thraustochytrids e espécies como *Cryptocodinium cohnii* pertencem ao gênero da família Cryptocodiniaceae. Essas microalgas são altamente eficientes na produção de DHA, sendo ideais para aplicações industriais (LOPES; MONIZ; REIS, 2020).

Thraustochytrids são protistas marinhos heterotróficos unicelulares do grupo *Stramenopile*, microalgas não fotossintéticas, presentes principalmente em águas ricas em sedimentos e materiais orgânicos ricos em ácido ω 3-docosahexaenóico (DHA) (MORABITO *et al.*, 2019).

Esses organismos têm uma capacidade notável de acumular ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa. Foram identificadas duas vias metabólicas em Thraustochytrids que sintetizam esses ácidos. Uma via convencional aeróbica, através das enzimas elongase/dessaturase (ELO/DES) e uma via anaeróbica de síntese de policetídeo (PKS). Entre as Thraustochytrids, algumas contêm as vias PKS e ELO/DES. No entanto, a maioria dos Thraustochytrids tem apenas uma única via PKS ou ELO/DES, o que pode levar a diferenças na síntese de ácidos graxos (MA *et al.*, 2022).

Schizochytrium sp. se destaca por sua capacidade de produzir grandes quantidades de lipídios, especialmente DHA (ácido docosa-hexaenoico), que excede 62% do total de seus lipídios que representa entre 36% à 84% da biomassa. O óleo de algas extraído de *Schizochytrium* sp. é amplamente utilizado e considerado seguro para consumo humano (DING *et al.*, 2022). A produção elevada de DHA pelo *Schizochytrium* sp. é devido à sua via PKS (sintase de poliquetídeos) única e eficiente. Esta via permite a síntese de DHA sem a necessidade das enzimas elongases ou desaturases de ácidos graxos, que são comuns em outros eucariotos (DING *et al.*, 2022). A *Aurantiochytrium* sp. também pertencente a classe dos Thraustochytrids, é um microrganismo heterotrófico que vive em ambiente marinho, podendo ser utilizado em indústrias de ração pelo seu alto conteúdo lipídico (55 a 75% na matéria seca), sendo que até 49% dos lipídios totais é DHA (BATISTA, 2019).

A espécie *Cryptocodinium cohnii* é uma microalga marinha heterotrófica, salobra e litorânea, amplamente distribuída em regiões temperadas e tropicais. Destaca-se por produzir apenas ácido docosahexaenóico (DHA) em seus lipídios celulares, o que facilita a purificação do DHA, tornando-a ideal para aplicações farmacêuticas e nutracêuticas. Este organismo é notável pela sua resiliência e adaptação a diferentes condições ecológicas (MENDES *et al.*, 2008).

2.1.2 Cultivo de microalgas

Existem dois tipos de sistemas de cultivo de microalgas para produções em largas escalas industriais. A escolha do sistema a ser utilizado depende muito da fisiologia da microalga. Os sistemas abertos são mais simples e econômicos por serem feitos de plástico ou concreto tendo alta durabilidade e com disponibilidade de energia solar e oxigênio livre através da atmosfera. São constituídos por pás de agitação que evitam a sedimentação e aeradores para o fornecimento de CO₂ que também pode ser obtido na atmosfera. Esse sistema é mais propício para espécies que crescem mais rapidamente e sobrevivem em condições extrema de pH, temperatura e salinidade. Lembrando que, os sistemas abertos podem ser artificiais como o descrito acima e naturais como as lagoas abertas sem agitação mecanizada (CARNEIRO *et al.*, 2017). Esse tipo de sistema não é vantajoso para empresas que necessitam de processos estéreis e trabalham com espécies mais sensíveis a contaminações e aos fatores de cultivo, já que são abertos e expostos ao meio sujeitos a chuvas e evaporação do meio de cultivo (LUCHE; GONÇALVEZ; SILVA, 2019).

Os sistemas fechados são mais complexos e possuem maiores custos de construção e operação, mas são mais propícios quando se pretende ter maior controle de pH, nutrientes, temperatura, agitação, aeração, intensidade luminosa e esterilização no processo. São mais utilizados para produção em larga escala de produtos com alto valor comercial como o ômega 3. Fazem parte do sistema fechado, os fotobiorreatores e os biorreatores. Nos fotobiorreatores são cultivadas espécies autotróficas ou mixotróficas, pois eles permitem a captação da luz pelas microalgas para realização da fotossíntese. Enquanto os biorreatores são para espécies heterotróficas como as mencionadas neste trabalho, que necessitam da inserção de um substrato orgânico como fonte de carbono, exemplo a glicose. Além disso, os biorreatores são de construção mais simples já que são isentos a utilização de luz solar ou artificial (LUCHE; GONÇALVEZ; SILVA, 2019).

Durante o processo de cultivo há diversos fatores que influenciam na concentração e composição da biomassa microalgal. Dentre os parâmetros físico-químicos estudados estão a temperatura, o pH, a agitação e aeração e os nutrientes (PEDRUZI *et al.*, 2020).

A temperatura é uma condição importante para o crescimento das microalgas e produção de lipídeos e ácidos graxos. O aumento da temperatura causa a diminuição do percentual de ácido graxos insaturados como o docosaheptaenoico nas frações lipídicas da célula (SOUTO *et al.*, 2014), esse fator varia de espécie para espécie, geralmente a temperatura ideal está entre 28 °C e 35 °C. Manter uma temperatura constante durante as operações de cultivo permite uma maior reprodutibilidade e previsibilidade de respostas das espécies. Normalmente essa temperatura constante em sistemas fechados é atingida por sistemas de refrigeração, como aspersores de água e trocadores de calor como serpentinas. Em sistemas abertos a dificuldade de controlar a temperatura já é maior, podendo a redução ser feita por lonas de plásticos cobrindo as lagoas (HERNÁNDEZ-PÉREZ; LABLÉ, 2014) (GUIRADO, 2019).

O pH não somente influencia no crescimento das microalgas como também na dissolução dos minerais. O pH precisa ser quase neutro para que as microalgas tenham uma boa absorção dos componentes do meio, o que também depende muito das espécies de cultivo. Para espécies como *Schizochytrium* sp valores de pH entre 4,9 e 5,1 são consideravelmente bons para o crescimento celular. (GUIRADO, 2019). O controle de pH também pode ser feito com o uso de tampões (PEDRUZI *et al.*, 2020). O processo de agitação ajuda na homogeneização do meio, mantendo as células em suspensão evitando que as mesmas se depositem no fundo do reator e distribuindo os nutrientes auxiliando na captura de CO₂ pelas microalgas. A agitação pode ser feita por injeção de ar

pressurizado e agitação mecânica através de pás que provocam a movimentação circular do líquido formando vórtices. Essa agitação deve ser em uma velocidade considerável para que não aconteça estresse físico nas células (PEDRUZI *et al.*, 2020).

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para o crescimento das microalgas, constituinte de aminoácidos, proteínas, enzimas, coenzimas e nucleotídeos. Em abundância esses nutrientes causam aumento nas concentrações de proteínas e clorofila, só que em baixas concentrações causam redução na multiplicação celular diminuindo a biomassa de microalgas e aumentando as concentrações de lipídeos nas células (SOUTO *et al.*, 2014).

2.2 Importância do nitrogênio no metabolismo das microalgas para a produção de ômega 3

O nitrogênio é fundamental no metabolismo das microalgas, influenciando a síntese de proteínas e lipídios, além de desempenhar um papel crítico nas reações bioquímicas que sustentam seu crescimento e desenvolvimento. A gestão adequada da disponibilidade de nitrogênio é essencial para otimizar a produção de biomassa e a produção de lipídios ricos em ômega-3.

A proporção de nitrogênio pode variar de 7 a 10% na biomassa seca (JARENKOW, 2014). A redução na quantidade de nitrogênio no meio de cultura possibilita que lipídios e carboidratos sejam sintetizados preferencialmente, isso acontece porque em estado de estresse as microalgas alteram o seu metabolismo para se adaptarem a escassez de nitrogênio. As microalgas interrompem a síntese de proteínas e passam a produzir lipídeos como forma de armazenamento de energia e carbono para sobrevivência em condições adversas (BERTOLDI; SANT'ANNA; OLIVEIRA, 2008).

De acordo com Gregory e Rech (2015) o aumento da concentração de nitrogênio combinada a diferentes temperaturas interferem na composição bioquímica da microalga *Chlorella* sp., onde a maior concentração de biomassa se encontra no ensaio com maior quantidade de nitrato de sódio (NaNO_3) a uma temperatura de 27°C. Isso afirma que quanto maior for a concentração de nitrogênio inserido no meio de cultura maior será a concentração de biomassa (GREGORY; RECH, 2015). Para as algas verde, baixas concentrações de nitrogênio aumentam o teor de lipídeos, variando de 44% a 66% do peso seco. Essa resposta ao estresse nutricional é específica de cada espécie, e as alterações na composição dos ácidos graxos e no teor de lipídios das microalgas podem ser tanto positivas quanto negativas (RECALCATTI, 2016).

Em estudos realizados por Martins e Fernandes (2016) foram isoladas cepas como *C. vulgaris*, *A. fusiformis* e *D. spinosus* para avaliação da produção de biomassa e teores lipídicos em decorrência da diminuição da concentração de nitrogênio no meio de cultivo. Em espécies como *D. spinosus* os teores de lipídios aumentaram com a depleção de nitrogênio e já em espécies como *C. vulgaris* e *A. fusiformis* não obtiveram diferenças significativas na produção de lipídeos. Lembrando que, essas espécies foram testadas em duas concentrações estressantes de nitrogênio, 0,05 g/L e 0,1 g/L de NaNO_3 (20% e 40%), sendo o controle de 0,25 g/L de NaNO_3 (100%).

Quando os autores usaram a cepa *D. spinosus* obtiveram 13,25 mg de lipídios em 217,3 mg de biomassa no controle (6,09%), 11,8 mg de lipídios em 90,4 mg de biomassa seca (13,05%) no primeiro teste (0,05 g/L de NaNO_3) e 12,95 mg de lipídios para 85,1 mg de biomassa (15,21%) no segundo teste (0,1 g/L de NaNO_3). Observou-se que as porcentagens de lipídeos aumentaram em relação a massa seca quando a concentração de nitrogênio é menor, sendo esses inversamente proporcionais a concentração de nitrato de sódio. Utilizando-se a *C. vulgaris* obtiveram 16,65 mg de lipídios em 130,6 mg de biomassa no controle (12,7%), 17,25 mg de lipídios em

134,8 mg de biomassa seca (12,7%) no teste 1, e 21,95 mg de lipídios para 146,3 mg de biomassa (15,0%) no teste 2. Já utilizando *A. fusiformis* foram obtidos 41,80 mg de lipídios em 174,2 mg de biomassa no controle (23,9%), 37,45 mg de lipídios em 197,1 mg de biomassa seca (19%) no teste 1, e 36,45 mg de lipídios para 194,5 mg de biomassa (18,7%) no teste 2. Observou-se que quando os autores utilizaram as duas últimas espécies cultivadas não houve alterações relevantes da concentração de lipídeos quanto a massa seca no controle e nos tratamentos (MARTINS; FERNANDES, 2016).

Tabela 1 – Teores de lipídeos totais e porcentagem de acordo com a massa seca obtida de cada espécie em diferentes porcentagens de nitrato de sódio no meio de cultura (0 = controle, 1 = 40% e 2 = 20%).

Tratamentos	Massa seca (mg/500ml)	Lipídeos totais (mg)	Teor de lipídeos (%)
A0	174,2	41,8	23,9
A1	197,1	37,45	19
A2	194,5	36,45	18,7
C0	130,6	16,65	12,7
C1	134,8	17,25	12,7
C2	146,3	21,95	15
D0	217,3	13,25	6,09
D1	90,4	11,8	13,05
D2	85,1	12,95	15,21

Fonte: Martins; Fogaça, 2016.

Nos estudos de Fogaça *et al.* (2014) aconteceu acúmulos de lipídeos significativos no cultivo da espécie *Chlorella* sp em baixas concentrações de NaNO₃. O enriquecimento do ar com CO₂ também intensificou a produção de lipídeos. Cultivadas em concentrações de 900 g/ml, 600 g/ml, 300 g/ml e 75 g/ml de nitrato de sódio, as microalgas adquiriram porcentagens de lipídeos na seguinte ordem: 12,9%, 10,8%, 12% e 14,3% respectivamente, com a sua maior produção de lipídeos no meio com concentração de 75 g/ml de nitrato de sódio. Também foram observados nesse mesmo estudo que em baixas concentrações de nitrogênio houve baixa produção de biomassa (FOGAÇA *et al.*, 2014).

Portanto, o redirecionamento do metabolismo das microalgas para produção de lipídeos varia de espécie para espécie, pois elas podem acumular compostos diferentes quando expostas a condições de estresse e também podem se readaptar ao meio, como pode ser o caso de *A. fusiformis* e *C. vulgaris* que não apresentaram mudanças significativas com a redução no nitrogênio (MARTINS; FERNANDES, 2016). Além disso, as combinações de fatores como a temperatura e inserção de compostos químicos como o CO₂ nos cultivos de Fogaça *et al.* (2014) foram essenciais para o aumento da concentração de lipídeos.

3 CONCLUSÃO

Não foram encontrados estudos comprovando o aumento dos teores lipídicos com a redução de nitrogênio em *Schizochytrium* sp., *Aurantiochytrium* sp. e *Cryptothecodinium cohnii*, mas foi possível observar através das espécies *Chlorella* sp, *D. spinosus*, *A. fusiformis* e *C. vulgaris* que o nitrogênio em baixas concentrações exerce uma certa influência no metabolismo das microalgas fazendo com que elas passem a acumular compostos de alto valor comercial em suas células como o ácido docosahexaenoico da série ômega 3, que é um importante

composto contido nas farinhas de microalgas utilizadas na aquicultura como alternativa sustentável para alimentação de peixes.

REFERÊNCIAS

BATISTA, R. O. **Farinha de *Aurantiochytrium* sp. como suplemento dietético para tilápia-do nilo em temperatura subótima: retenção de ácidos graxos e alterações metabólicas.** Dissertação (Pós-graduação em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

BERTOLDI, F. C., SANT'ANNA, E. OLIVEIRA, J. L. B. **Revisão: biotecnologia de microalgas.** Universidade Federal do Paraná, Curitiba, volume 26, n. 1, página 9-20, janeiro/junho de 2008. Disponível em: 02 - FABIANO - REVISÃO.pmd. Acesso em: 19 de out. de 2024.

CARNEIRO, A. *et al.* **Uso de Microalgas para Produção de Biodiesel.** Universidade Federal de Itajubá, Itabira, 2017.

DING, J., *et al.* **Aumentando a produção de ácido docosahexaenóico de *Schizochytrium* sp. otimizando a fermentação usando design composto central.** BMC Biotechnol 22, 39, 2022. Disponível em: Enhancing docosahexaenoic acid production of (springer.com). Acesso em: 22 de set. de 2024.

FOGAÇA, T. F. *et al.* **Estudo da concentração de biomassa e da produção e extração de lipídeos na microalga *Chlorella* sp.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

FREITAS, J. F. **Mapeamento tecnológico da utilização de microalgas para produção de bioprodutos.** 2009. Dissertação (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: <https://pantheon.ufrj.br/handle/11422/17507?mode=simple>. Acesso em: 18 de set. de 2024.

GARCÍA-ROMERAL, J. *et al.* **Principios de Biotecnología y Bioingeniería en el cultivo de microalgas: importancia, problemas tecnológicos, tipos y sistemas de cultivos, crecimiento, factores limitantes, selección, aislamiento, escalado y caracterización bioquímica.** 2017. Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir, Valencia, 2016.

GREGORY, G.; RECH, R. **Efeito da variação de temperatura e concentração de nitrogênio no cultivo da microalga *Chlorella* sp.** Sobre a produção de carotenoides e biomassa. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

GUIRADO, J. P. F. **Obtenção de ácidos graxos poli-insaturados a partir da hidrólise de óleo microalgal.** Monografia (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade de São Paulo, Escola de engenharia de Lorena, Lorena, 2019.

HERNANDEZ-PEREZ, A.; LABBE, J. I. **Microalgas, cultivo e benefícios**. Rev. biol. mar. oceanogr., Valparaíso , v. 49, n. 2, p. 157-173, Agosto de 2014 . Disponível em: Microalgas, cultivo y beneficios. Acesso em: 18 de nov 2024.

HU, Q. *et al.* **Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances**. The Plant Journal, v. 54, n. 4, p. 621–639, maio de 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18476868/>. Acesso em: 18 de set. de 2024.

JARENKOW, A. **Estudo da produção e extração de lipídeos na microalga *Chlorella* sp.** Dissertação (Pós-graduação em Engenharia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

LOPES, T.S.; MONIZ, P.; REIS, A. **A face escura da biotecnologia de microalgas: a biorefinaria de microalgas heterotróficas direcionada para a produção de lípidos ricos em compostos ω -3 e biocombustíveis**. Unidade de Bioenergia, Laboratório Nacional de Energia e Geologia, Lisboa, 2020.

LUBIANA, K. M. F. **Microalgas: ecologia, biodiversidade e importância**. ResearchGate, 2014. Disponível em: Apostila Botânica no Inverno 2014.pdf. Acesso em: 19 de out. de 2024.

MA, W. *et al.* **Coprodução eficiente de EPA e DHA por *Schizochytrium* sp. via regulação da via da policetídeo sintase**. Commun Biol 5, 1356, 2022. Disponível em: Coprodução eficiente de EPA e DHA por *Schizochytrium* sp. via regulação da via da policetídeo sintase | Biologia das Comunicações (nature.com). Acesso em: 22 de set. de 2024.

MARTINS, G. B.; FERNANDES, V. O. **Efeitos da depleção de nitrogênio sobre a biomassa e produção lipídica de três espécies de microalgas**. 2016. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Vitória, 2014.

MENDES, A. *et al.* **Crypthecodinium cohnii with emphasis on DHA production: a review**. Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação (INETI), Departamento de Biotecnologia, Unidade de Bioengenharia e Bioprocessos, Lisboa, 2008. Disponível em: Crypthecodinium-cohnii-with-emphasis-on-DHA-production-A-review.pdf. Acesso em: 19 de out. de 2024.

MINELLO, L C. **Potencial biotecnológico das microalgas: referencial teórico das suas aplicações**. 2022. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo, Diadema, 2022. Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/items/98e332db-0dda-478b-9391-e92cfa0d3e3e>. Acesso em: 18 de set. de 2024.

MORABITO, C. *et al.* **The lipid metabolism in thraustochytrids**. Progress in Lipid Research, volume 76, 2019, 101007, ISSN 0163-7827. Disponível em: The lipid metabolism in thraustochytrids - ScienceDirect. Acesso em: 22 de set. de 2024.

PEDRUZI, G. O. L. *et al.* **Biomass accumulation-influencing factors in microalgae farms.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, volume 24, páginas 134–139, 20 dez. 2019. Disponível em: scielo.br/j/rbeaa/af3gfkjwdvwPRpY7rjTPGSfM/?format=pdf&lang=en. Acesso em: 18 de set. de 2024.

RECALCATTI, J. F. **Influência da privação de nitrogênio no cultivo da microalga *Chlamydomonas reinhardtii* visando a produção de lipídeos.** Mestrado (Pós-Graduação em Bioenergia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Toledo, 2016. Disponível em: PASSOS PARA ELABORAR UM PROJETO (de estágio ou de pesquisa). Acesso em: 19 de out. de 2024.

SOUTO, A. R. *et al.* **Potencialidades e desafios do cultivo.** Londrina: IAPAR, 2014. Disponível em: (PDF) Microalgas de Águas Continentais: Potencialidades e Desafios do Cultivo ([researchgate.net](https://www.researchgate.net)). Acesso em: 22 de set. de 2024.

VICTOR, M. M.; MOUTINHO, F. L. B.; RIATTO, V. B. **Microalgas: uma estratégia sustentável na transformação e obtenção de compostos orgânicos.** 2023. Centro Interdisciplinar em Energia e Ambiente (CIENAM), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2023. Quim. Nova, volume 47, edição 2, e-20230107, páginas 1-17, 2024. Disponível em: [RV2023-0183.pdf](https://sbq.org.br/RV2023-0183.pdf) (sbq.org.br). Acesso em: 18 de set. de 2024.

YAP, B. H. J.; CRAWFORD, S. A.; DAGASTINE, R. R.; ESCALAS, P. J.; MARTIN, G. J. **Nitrogen deprivation of microalgae: effect on cell size, cell wall thickness, cell strength, and resistance to mechanical disruption.** Society for Industrial Microbiology and Biotechnology (SIMB), volume 43, edição 12, páginas 1671–1680, 1º de dezembro de 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10295-016-1848-1>. Acesso em: 18 de set. de 2024.