



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**PERFIL DO BIO-ÓLEO OBTIDO A PARTIR DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES DE
BIOMASSA DE *Chlorella vulgaris***

São Cristóvão – SE

2020

SHEILA SILVA DE OLIVEIRA

**PERFIL DO BIO-ÓLEO OBTIDO A PARTIR DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES DE
BIOMASSA DE *Chlorella vulgaris***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadoras:

Prof.^a Dr.^a Cristina Ferraz Silva

Prof.^a Dr.^a Lisiane dos Santos Freitas

São Cristóvão -SE

2020

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

O48p Oliveira, Sheila Silva de
Perfil do bio-óleo obtido a partir de diferentes composições de
biomassa de *Chlorella vulgaris* / Sheila Silva de Oliveira ;
orientadora Cristina Ferraz Silva. - São Cristóvão, 2020.
60 f. :il.

Dissertação (mestrado em Engenharia Química) – Universidade
Federal de Sergipe, 2020.

1. Engenharia química. 2. Biomassa. 3. Algas marinhas. 4.
Biocombustíveis. 5. Composição celular. 6. Cromatografia à gás I.
Silva, Cristina Ferras, orient. II. Título.

CDU 662.6

SHEILA SILVA DE OLIVEIRA

**PERFIL DO BIO-ÓLEO OBTIDO A PARTIR DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES DE
BIOMASSA DE *Chlorella vulgaris***

Dissertação de Mestrado aprovada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da
Universidade Federal de Sergipe em 27 de fevereiro de 2020.

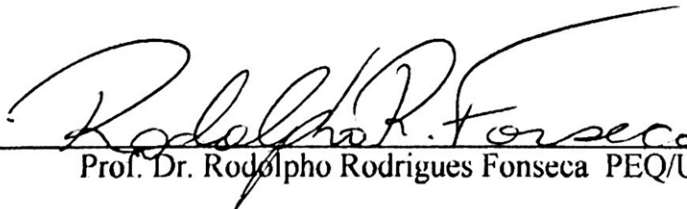
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Cristina Ferraz Silva - Orientadora PEQ/UFS



Profa. Dra. Flaviana Cardoso Damasceno PPGQ/UFS



Prof. Dr. Rodolpho Rodrigues Fonseca PEQ/UFS

RESUMO

A busca pela produção de combustíveis sustentáveis resgatou o interesse nas microalgas, associando-as a processos de termoconversão. Dentre esses, a pirólise consegue produzir bio-óleo a partir de componentes celulares como lipídeos, carboidratos e proteínas. Os componentes celulares variam de acordo com a espécie do organismo e fatores externos como tempo de cultivo e estresse nutricional. O presente estudo objetiva a produção de células de *Chlorella vulgaris* com diferentes percentuais de lipídeos, carboidratos e proteínas, bem como associa a composição da biomassa aos perfis dos bio-óleos obtidos via pirólise. Para tanto, foram considerados o tempo de cultivo e o fornecimento de nutrientes na etapa de obtenção das biomassas. As biomassas obtidas foram pirolisadas a 500°C e os perfis dos bio-óleos foram analisados utilizando GC/MS. Os diferentes cultivos resultaram em três biomassas, uma rica em proteínas com 43,69% (m/m) desse biocomposto na composição celular, uma rica em carboidratos apresentando 44,39% (m/m) do mesmo e uma rica em lipídeos com 34% (m/m). Os bio-óleos obtidos apresentaram predominantemente hidrocarbonetos em sua composição, os quais chegaram a representar quase 60 % em área para o bio-óleo proveniente de biomassa rica em lipídeos. Além disso, os bio-óleos apresentaram baixos teores de compostos nitrogenados, com o máximo de 2 % de nitrogenados em área para o bio-óleo proveniente da biomassa rica em proteínas. Outros compostos como ácidos carboxílicos, álcoois, fenóis e cetonas também estavam presentes em diferentes proporções para cada bio-óleo proveniente das biomassas. Com isso, os dados obtidos evidenciam que a composição da biomassa de *C. vulgaris* influi diretamente no perfil do bio-óleo obtido. Dessa forma, a relação estabelecida nesse estudo colabora com o melhor direcionamento das biomassas geradas nos processos com a microalga para as áreas de maior aplicabilidade, agregando valor tanto ao processo como ao produto.

Palavras-chave: microalga, estresse nutricional, composição celular, pirólise, cromatografia gasosa

ABSTRACT

The search for the production of sustainable fuels rescued the interest in microalgae, associating them to the thermoconversion process. Among these, pyrolysis is able to produce bio-oil from cellular components such as lipids, carbohydrates and proteins. The cellular components vary according to the species and external factors such as cultivation time and nutritional stress. The present study aims to produce *Chlorella vulgaris* cells with different percentages of lipids, carbohydrates and proteins and associates the composition of biomass to the profiles of bio-oils used via pyrolysis. For that, time and nutrient supply were considered in the biomass cultivation stage. The obtained biomasses were pyrolyzed at 500 ° C and the profiles of the bio-oils were analyzed using GC / MS. The different crops resulted in three biomass: one rich in proteins with 43.69% (w/w) of this biocomposite in the cell composition, one rich in carbohydrates, reaching 44.39% (w/w) of the same, and one rich in lipids with 34% (w/w). The bio-oils obtained showed predominantly hydrocarbons in their composition, which reached 60%, in area, in bio-oil from biomass rich in lipids. Besides, bio-oils shows low levels of nitrogen compounds, with a maximum of 2% nitrogen in area for bio-oil from biomass rich in proteins. Other compounds acids such as carboxylic, alcohols, phenols, and ketones have also present in different proportions for each of the bio-oils from the different biomass profiles. As a result, the data obtained show that the composition of *C. Vulgaris* biomass directly influences the profile of the obtained bio-oil. Thus, the relationship establish in this study contributes to the biomass generated in the process with microalgae to the areas of greatest applicability, adding value to both the process and the product.

Keywords: microalgae, nutritional stress, cell composition, pyrolysis, gas chromatography

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação de empresas representativas que comercializam combustíveis de algas...23	23
Tabela 2 - Composição do meio WC.....25	25
Tabela 3 - Condições cromatográficas para análise dos bio-óleos.....30	30
Tabela 4 - Composição percentual da célula de <i>Chlorella vulgaris</i> obtidas em diferentes estudos. As biomassas BP, BC e BL representam composição majoritária em proteínas, carboidratos e lipídios, respectivamente.....37	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Metabolismo esquematizado da célula de <i>Chlorella vulgaris</i> para a produção de proteínas, carboidratos e lipídeos.	15
Figura 2 - Imagem microscópica de células de <i>Chlorella vulgaris</i>	17
Figura 3 - Biomassa seca de <i>Chlorella vulgaris</i>	18
Figura 4 - Tecnologias de conversão de biomassa em biocombustível.....	19
Figura 5 - Esquema de pirólise para obtenção de carvão, bio-óleo e gases não condensáveis.21	
Figura 6 - Diagrama esquemático dos equipamentos utilizados na pirólise.....	29
Figura 7 - Aspecto visual da biomassa seca rica em proteínas (BP).	32
Figura 8 - Aspecto visual da biomassa seca rica em carboidratos (BC).....	32
Figura 9 - Aspecto visual da biomassa seca rica em lipídeos (BL).	33
Figura 10 - Curva de crescimento da biomassa rica em proteínas (BP).....	34
Figura 11 - Curva de crescimento da biomassa rica em carboidratos (BC).	35
Figura 12 - Curva de crescimento da biomassa rica em lipídeos (BL).....	35
Figura 13 - Cromatogramas dos bio-óleos provenientes de BP (A), BC (B) e BL (C).....	39
Figura 14 - Gráfico comparativo das composições médias dos bio-óleos provenientes das biomassas com maior teor de proteínas (BP), biomassa com maior teor de carboidratos (BC) e biomassa com maior teor de lipídeos (BL).....	40

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVO	12
2.1	OBJETIVO GERAL	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3	REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1	MICROALGAS	13
3.1.1	Cultivo de microalgas	13
3.1.2	Produção de proteínas, carboidratos e lipídios	15
3.1.3	<i>Chlorella vulgaris</i>	17
3.2	OBTENÇÃO DE COMBUSTÍVEIS A PARTIR DE MICROALGAS	18
3.2.1	Reação química	19
3.2.2	Conversão bioquímica	20
3.2.3	Conversão termoquímica	20
3.3	PIRÓLISE	21
3.3.1	Pirólise de microalgas	22
3.4	BIO-ÓLEO	23
4	METODOLOGIA	25
4.1	CULTIVO DE MICROALGAS	25
4.1.1	Inóculo e produção de biomassa	25
4.1.2	Produção de biomassa rica em proteínas (BP)	25
4.1.3	Produção de biomassa rica em carboidratos (BC)	26
4.1.4	Produção de biomassa rica em lipídeos (BL)	26
4.1.5	Cinética do crescimento das biomassas	26
4.2	SECAGEM DA BIOMASSA	27
4.3	CARACTERIZAÇÃO DAS BIOMASSAS	27

4.3.1	Teor de proteínas	27
4.3.2	Teor de carboidratos	28
4.3.3	Teor de lipídeos	28
4.4	PIRÓLISE E EXTRAÇÃO DO BIO-ÓLEO	29
4.5	DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE BIO-ÓLEO	30
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
5.1	CULTIVO E CINÉTICA DE CRESCIMENTO	32
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS BIOMASSAS	36
5.3	PERFIL DE BIO-ÓLEO	38
6	CONCLUSÃO	43
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	44
8	REFERÊNCIAS	45
APÊNDICE A	55

1 INTRODUÇÃO

Em um momento em que a palavra de ordem é sustentabilidade, muitos esforços estão voltados para a busca por soluções que amenizem os impactos relativos às atividades desenvolvidas cotidianamente pelos seres humanos. A necessidade de trilhar caminhos mais sustentáveis com um desenvolvimento limpo a partir de inovações verdes tem influenciado pesquisadores a buscarem opções para a produção de energia renovável e é nesse contexto que o interesse pelas microalgas tem sido renovado (SINGH et al., 2016; ZAINAN et al., 2018).

Nesse contexto, as microalgas são ditas promissoras por oferecerem grande potencial biotecnológico como mitigação de dióxido de carbono e tratamento de efluentes sanitários e industriais, por exemplo. Além disso, sua disponibilidade no meio ambiente e rápida taxa de crescimento justificam o interesse na sua aplicação para obtenção de energia (GOUVEIA e OLIVEIRA, 2009).

Estima-se que existam mais de 50000 espécies de microalgas, porém apenas um pouco mais da metade é conhecida pela ciência. Dentre estas está a *Chlorella vulgaris* que se destaca por ser robusta e resistente a contaminações (LIANG et al., 2009).

Assim como as demais microalgas, a *C. vulgaris* é constituída principalmente por lipídeos, proteínas e carboidratos. As porcentagens em que cada um desses componentes aparece nas células depende diretamente da espécie. Contudo, também estão relacionados a aspectos externos como nutrientes disponíveis e tempo de cultivo, pois esses fatores estimulam diferentes rotas no metabolismo celular (BABU et al., 2017; ZAMALLOA et al., 2011; RICHMOND, 2004).

Por isso quando se trata de bioenergia, conhecer a composição da biomassa é importante para a escolha correta do processo de conversão. A depender do processo, a composição pode, inclusive, gerar produtos com diferentes perfis e aplicações.

Dentre os processos utilizados para converter biomassa em produtos energéticos, destaca-se a pirólise, uma rota simplificada que atua nessa conversão em um pequeno espaço de tempo (CHEN et al., 2015). A grande vantagem da conversão termoquímica é a sua eficácia em transformar a matéria-prima em diferentes compostos, o que implica no aproveitamento total dos mais variados perfis de biomassas, incluindo a transformação de lipídeos, carboidratos e proteínas (SOTOUDEHNI AKARANI et al., 2019). Compreende a decomposição térmica que ocorre na ausência de oxigênio e gera essencialmente bio-carvão (fração sólida), gases não

condensáveis e bio-óleo. A composição e o rendimento dos produtos gerados na pirólise estão diretamente ligados a matéria-prima e variáveis empregadas no processo (WANG et al., 2017).

Os gases gerados durante a pirólise podem ser utilizados no próprio processo como combustíveis nas zonas de aquecimento. Já o bio-óleo, a depender de sua qualidade, além de ser precursor de combustível, pode ser aproveitado como matéria-prima em indústrias químicas para a produção de solventes, por exemplo. Apesar de ser um processo consolidado para biomassa lignocelulósica, Mohan et al. (2006) afirmam que o bio-óleo produzido por esse tipo de biomassa é ácido, instável, corrosivo, o que não acontece com o bio-óleo produzido a partir de microalgas.

Nesse contexto, a *Chlorella vulgaris*, espécie de microalga amplamente empregada biotecnologicamente, pode servir de matéria-prima para a produção de bio-óleo com características extremamente relevantes. Contudo, a variação de composição deste microrganismo pode gerar perfis de bio-óleo diferentes, possibilitando aplicações em setores industriais distintos, justificando o estudo do perfil da sua biomassa.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem por objetivo associar o perfil do bio-óleo obtido por processo de pirólise à composição celular de biomassa de *Chlorella vulgaris* com maior concentração de proteínas, carboidratos ou lipídeos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os meios de cultivo para o acúmulo de proteínas, carboidratos e lipídeos na biomassa de *Chlorella vulgaris*;
- Determinar as cinéticas de crescimento da microalga nos diferentes meios de cultura;
- Caracterizar as biomassas obtidas nos diferentes cultivos;
- Obter os bio-óleos a partir das biomassas de *Chlorella vulgaris* pelo processo de pirólise;
- Caracterizar os bio-óleos obtidos estabelecendo o perfil de cada um deles e associar ao perfil da biomassa correspondente.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 MICROALGAS

O termo microalgas é utilizado para denominar um diversificado grupo de microrganismos que basicamente apresentam em comum a característica de possuir o pigmento fotossintetizante chamado clorofila. Segundo Lourenço (2006), as microalgas são muito diferentes entre si no que diz respeito a composição química, origem e morfologia. Logo, entende-se que esse termo generalizado não possui nenhum valor taxonômico. Apesar disso, observa-se que, no geral, esses microrganismos desenvolvem-se bem em ambientes adversos e ineptos quanto à disponibilidade nutricional, apresentando altas taxas de crescimento devido a simplicidade de suas células (LI et al., 2008).

Estima-se que existam mais de 50 mil espécies de microalgas vivendo nos mais diversos ecossistemas, podendo ser encontradas em água doce, água salgada e até mesmo em alguns tipos de solos (SHAH et al., 2016). A justificativa para tanta versatilidade vem da resistência desses microrganismos que são capazes de crescer em meio a contaminação e ambientes adversos como efluentes sanitários e industriais, sobreviver a grandes variações de pH e temperatura, e também resistir à salinidade e adaptar-se às fontes de nutrientes disponíveis (GALARZA et al, 2016). Além das características já citadas, outras vantagens ético-ambientais como segurança alimentar e mitigação de dióxido de carbono somam-se à ausência de lignina na célula e às altas taxas de produção, tornando essa biomassa protagonista dentro do contexto científico e tecnológico contemporâneo da busca pela produção de energia renovável (MALIUTINA et al., 2018; SINGH et al., 2016).

3.1.1 Cultivo de microalgas

Cultivar microalgas não demanda muitos esforços, pois um meio de cultura simples contendo fontes de nitrogênio, fósforo e sais minerais como magnésio e ferro é suficiente para que elas se reproduzam. A depender da finalidade, esse cultivo pode ser feito em sistemas abertos ou fechado e sob controle de condições de crescimento (RAPOSO, 2013).

Existem variados tipos de sistemas abertos para o cultivo de biomassa algal. Esses sistemas são utilizados desde 1950 e ainda hoje são largamente empregados para produção em grande escala. Richmond (2004) afirma que a facilidade de construção e operação desses

sistemas, bem como a economia no emprego dos mesmos, são fatores preponderantes que ainda justificam essa preferência por esse tipo de cultivo em escala industrial. O cultivo aberto pode ser desde uma simples lagoa aberta, sem nenhum equipamento assessorando a homogeneização do meio até os sistemas conhecidos por *raceway* que englobam defletores e turbinas (VADIVELOO e MOHEIMANI, 2018).

Com o crescente interesse por esses microrganismos, aumentou também a busca por equipamentos que permitam uma alta eficiência na produtividade e minimização do risco de contaminação. Nesse âmbito, a segurança dos sistemas fechados tem dado destaque aos chamados fotobiorreatores. Os mais utilizados são os tubulares, placas e colunas de bolhas (ERIKSEN, 2008). Segundo Perez-Garcia et al. (2011), para construção desses equipamentos é levado em consideração as condições de pH, temperatura e difusão de gás, uma vez que acesso ao dióxido de carbono é necessário para a manutenção dos cultivos baseados na fotossíntese. O controle dos fatores confere ao cultivo em sistemas fechados vantagem em relação ao cultivo em sistemas abertos, isso porque controlá-los torna possível melhorar os rendimentos de biomassa e compostos de interesse como ocorre, por exemplo, nas indústrias nutracêutica e farmacêutica (SAFI et al., 2014).

Outro aspecto que deve ser abordado é o tipo de cultivo quanto ao metabolismo da microalga. Nesse sentido, existem três possibilidades: autotrofia, heterotrofia e mixotrofia. Perez-Garcia et al. (2011) afirmam que o cultivo mais comum para microalgas é o autorófico pela própria natureza do microrganismo e sua eficiência em conversão de energia luminosa. Porém, muitas microalgas podem crescer heterotroficamente, com independência de luz e convertendo fontes orgânicas de carbono (XU et al., 2006). Chen e Johns (1994) afirmam que o cultivo heterotrófico oferece a possibilidade de aumento significativo da produtividade em biomassa justamente pela independência da luz. Porém, a adição de fontes orgânicas e a ausência de luminosidade podem aumentar os riscos de contaminação da cultura.

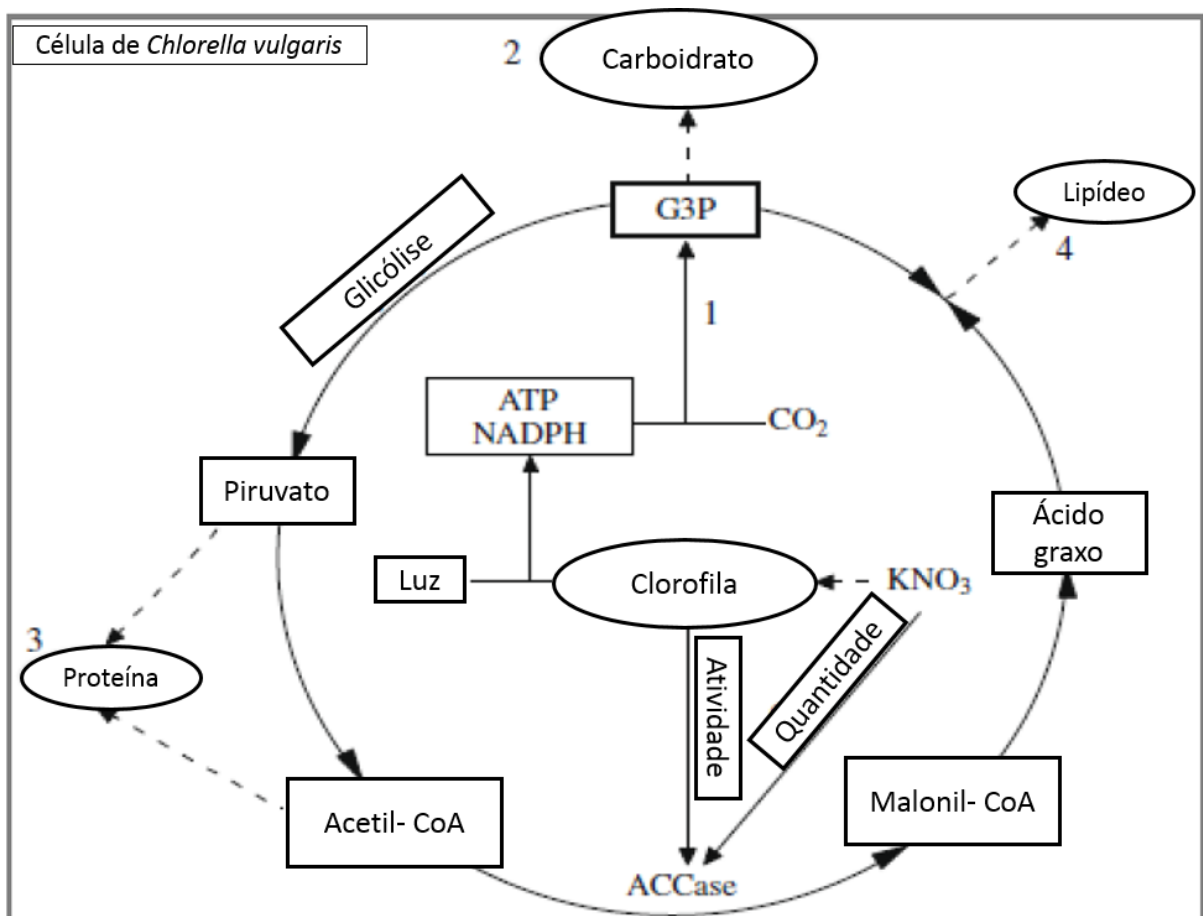
O cultivo mixotrófico possui características que mesclam o cultivo autotrófico e o heterotrófico. Nesta modalidade, a fotossíntese continua sendo o metabolismo prioritário muito embora fontes orgânicas de carbono sejam essenciais à manutenção celular. Na mixotrofia a matéria orgânica atua como fonte de carbono e o dióxido de carbono exerce o papel de doador de elétrons, dessa forma, respiração e fotossíntese atuam concomitantemente (CHOJNACKA e MARQUEZ-ROCHA, 2011).

3.1.2 Produção de proteínas, carboidratos e lipídios

As microalgas são constituídas principalmente por lipídios, proteínas e carboidratos. As porcentagens em que esses compostos aparecem nas células dependem da natureza de cada espécie e também estão relacionadas a fatores externos como, por exemplo, o meio de cultura. A presença ou ausência de determinados nutrientes podem estimular diferentes rotas metabólicas (BABU et L., 2017; ZAMALLOA et al., 2011; RICHMOND, 2004). Dessa forma, usar o conhecimento do metabolismo da microalga manipulando os nutrientes disponibilizados no meio de cultura possibilita a produção de células de diferentes perfis, com composições mais ou menos ricas em cada uma dessas biomoléculas.

A Figura 1 esquematiza de forma simplificada o metabolismo de uma célula da microalga *Chlorella vulgaris* mostrando as vias de produção de proteínas, carboidratos e lipídeos.

Figura 1 - Metabolismo esquematizado da célula de *Chlorella vulgaris* para a produção de proteínas, carboidratos e lipídeos.



Fonte: Adaptado de Ming et al., 2010.

Levando em consideração o metabolismo autotrófico, a Figura 1 apresenta a capacidade da célula em utilizar estímulo luminoso para fixar dióxido de carbono convertendo-o em gliceraldeído-3-fosfato (G3P) ao final do ciclo de Calvin. Ao sair do ciclo, a G3P é utilizada para a síntese de carboidrato (glicose) o qual sofrerá glicólise na sequencia metabólica para a produção de piruvato, que é um composto orgânico formado com três átomos de carbono. Esse composto pode ser precursor direto de aminoácidos para a formação de proteínas ou, ainda, pode sofrer a ação da coenzima A para a formação de acetilcoenzima A, composto que além de precursor de aminoácidos, também pode dar origem a substâncias energéticas como lipídeos. A depender das condições as quais as células são expostas, outro caminho metabólico pode ser adotado, gerando o acúmulo de carboidratos e lipídeos como reservas energéticas.

Cultivadas em meios com abundância de nutrientes, a maioria das microalgas se tornam fontes de proteínas. Ge e Champagne (2016), afirmam que o conteúdo proteico na microalga está intimamente correlacionado com as concentrações de nitrogênio no meio. Com isso, o seu excesso torna-se um fator crucial para a produção de aminoácidos influenciando diretamente o crescimento da biomassa.

A limitação de nitrogênio e fósforo, elemento essencial para a produção de ATP na célula, afeta as funções celulares e direciona o metabolismo para o acúmulo de carboidratos e lipídeos (MARKOU, 2012). Segundo Siaux et al. (2011), há uma competição metabólica para a produção desses dois compostos. No geral, a biossíntese de carboidratos acontece antes da produção de lipídeos, sendo os últimos considerados reserva energética de longo prazo. O aumento de carboidratos nas células microalgais remete-se ao processo de fixação de dióxido de carbono durante a execução do ciclo de Calvin no processo de fotossíntese, o que indica a necessidade de manter as células sob excesso de gás carbônico.

Ho et al. (2011) observaram que quanto maior o período de privação em nitrogênio que a microalga é exposta, maior é o acúmulo lipídico em suas células. A produção lipídica está atrelada, na maioria das vezes, ao inverso da taxa fotossintética, portanto, a célula deve ser submetida a fatores de estresse no intuito de reduzir esse metabolismo. Assim, primeiro é necessário que o cultivo do microrganismo seja feito sob condições ótimas de crescimento para então haver uma posterior redução dos nutrientes essenciais como é o caso do nitrogênio (Becker, 1994).

3.1.3 *Chlorella vulgaris*

Dentro da grande diversidade de espécies de microalgas já conhecidas, destaca-se a *Chlorella vulgaris*. Ela é unicelular, esférica, com diâmetro entre 2 e 12 μm , possuindo os pigmentos clorofila a e b, beta-caroteno e xantofilas (OHSE et al., 2008). Ela é amplamente utilizada em estudos científicos e atualmente é a microalga mais cultivada comercialmente devido a sua versatilidade e as múltiplas vantagens biotecnológicas que apresenta. Dentre elas está a robustez, resistência a contaminação, alta taxa de crescimento, grande capacidade de adaptação e acúmulo de biomoléculas de interesse comercial (LIANG et al., 2009; LEE, 2008; WANG e PARK,2015).

O rápido crescimento e o acúmulo de lipídeos com propriedades comparáveis ao do petróleo tem atraído a atenção de pesquisadores para a espécie (AZIZI et al., 2017). Segundo Zainan et al. (2018), a *Chlorella vulgaris* é vista como matéria-prima promissora para a produção de biocombustíveis como derivados de seu bio-óleo obtido via pirólise.

A Figura 2 é uma imagem de células de *Chlorella vulgaris* obtida através de microscópio óptico e a Figura 3 é a biomassa seca e macerada da microalga.

Figura 2 - Imagem microscópica de células de *Chlorella vulgaris*.

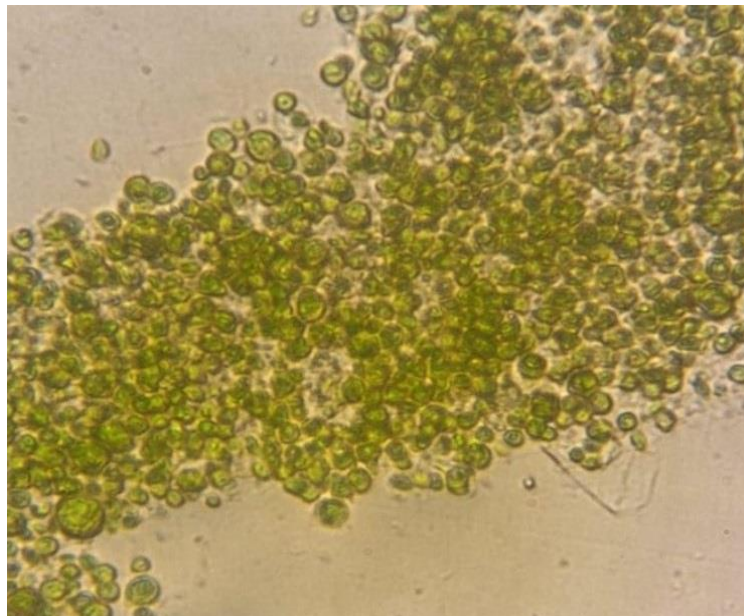


Figura 3 - Biomassa seca de *Chlorella vulgaris*.

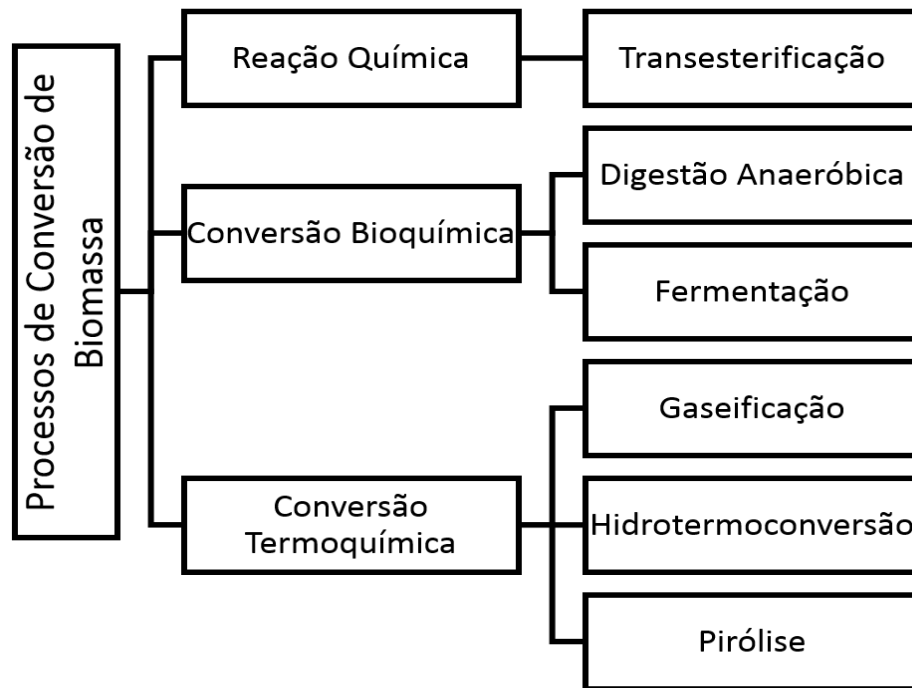


3.2 OBTENÇÃO DE COMBUSTÍVEIS A PARTIR DE MICROALGAS

O aumento da demanda energética coloca em debate o uso desenfreado de recursos que além de serem provenientes de fontes fósseis, ainda estão associados diretamente à emissão de gases que acentuam o efeito estufa, a exemplo do dióxido de carbono (SHUBA e KIFLE, 2018). A necessidade de trilhar caminhos mais sustentáveis com um desenvolvimento limpo a partir de inovações verdes tem influenciado pesquisadores a buscarem opções para a produção de energia renovável (SINGH et al., 2016). A busca por fontes de energia ambientalmente corretas e competitivas vem ampliando o interesse no desenvolvimento de novas tecnologias capazes de suprir a necessidade de combustíveis sustentáveis. É nessa perspectiva que as atenções se voltam para as microalgas como alternativa viável de biomassa, integrando a terceira geração de biocombustíveis (OLIVEIRA e SILVA, 2018).

Para tanto, as tecnologias de conversão de biomassas em produtos com valor agregado vêm sofrendo renovações afim de atender a demanda e expectativas acerca desse assunto. As atuais técnicas existentes e adaptadas no ramo energético que podem ser empregadas à biomassa de microalgas podem ser categorizadas em três bases, sendo reacional, biológica e termoquímica, como pode ser observado no fluxograma da Figura 4.

Figura 4 - Tecnologias de conversão de biomassa em biocombustível.



Fonte: Amin (2009); Brennan e Owende (2010).

3.2.1 Reação química

A produção de biodiesel pela reação de transesterificação é uma tecnologia consolidada quando se trata de óleos vegetais. Na presença de catalisador, triglicerídeos reagem com álcoois para produzir o biocombustível (HOEKMAN et al., 2012). Quando se trata de microalgas, são necessárias adaptações. Inicialmente, sugere-se que a matéria-prima seja submetida a processos de extração utilizando solventes orgânicos para então ser realizada a transesterificação.

Outra alternativa é o processo conhecido como transesterificação *in situ* no qual as etapas são integradas diminuindo perdas e custos (DONG et al., 2013). John et al. (2017) discutem a possibilidade da utilização de enzimas na transesterificação *in situ* como uma maneira ainda mais eficaz de produzir biodiesel, uma vez que esses catalisadores são altamente específicos e reduzem a formação de coprodutos durante a reação (GO et al, 2016). Mathimani et al. (2015), afirmam que o biodiesel proveniente de microalgas é um substituto plausível para o diesel convencional.

3.2.2 Conversão bioquímica

Dentro dos processos bioquímicos de conversão, destacam-se a fermentação e a digestão anaeróbica. Segundo Didem et al. (2015), as microalgas são potenciais matérias-primas para fermentação, pois chegam a apresentar 40% em massa de amido, um tipo de carboidrato de reserva energética. Para chegar à fermentação, a célula microalgal deve ser previamente rompida para liberação dos carboidratos os quais seguem para o processo de hidrólise ou sacarificação, afim de alcançarem forma monomérica fermentecível (SIMAS-RODRIGUES et al., 2015).

Além da produção de etanol, as microalgas também apresentam potencial para a produção de metano e hidrogênio por digestão anaeróbica. Características como ausência de lignina e alta taxa de umidade, tornam as microalgas um bom material para esse tipo de processo (VERGARA-FERNANDEZ et al., 2008).

3.2.3 Conversão termoquímica

A conversão termoquímica é a alteração da estrutura química da biomassa quando submetida a altas temperatura com o objetivo de produzir biocombustíveis. Os processos térmicos de conversão que mais se destacam compreendem a gaseificação, hidrotermoconversão e pirólise, sendo os dois últimos capazes de fornecer, além dos produtos gasosos, produtos sólidos e líquidos.

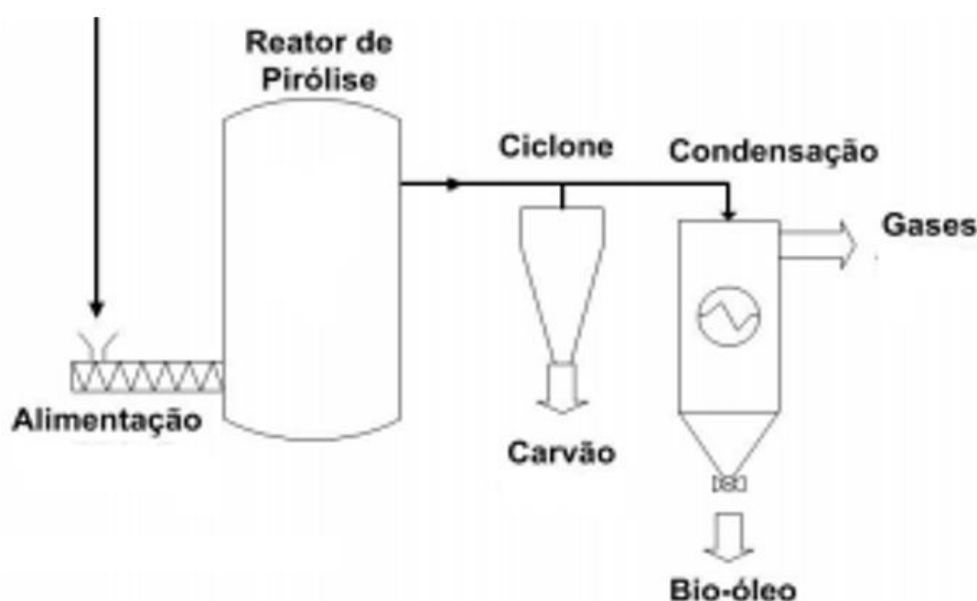
A gaseificação converte combustíveis sólidos ou líquidos em combustíveis gasosos através da oxidação parcial dos materiais. Esse processo envolve uma série de reações de natureza homogênea e heterogênea que resultam em gás de síntese. Segundo Woolcock e Brown (2013), o gás de síntese pode ter diversas aplicações como a síntese de químicos e combustíveis.

A hidrotermoconversão é realizada em meio aquoso e exige água em condições supercríticas, já a pirólise pode ser definida como a decomposição térmica de materiais orgânicos na ausência de agente oxidante (oxigênio), de forma a impedir a gaseificação intensiva da matéria (KLASS, 1998). Trata-se de um processo rápido, com tempo de residência reduzido e consolidado na conversão de biomassas lignocelulósicas.

3.3 PIRÓLISE

A pirólise é um processo endotérmico no qual os componentes principais da biomassa são degradados sob temperaturas variantes entre 300°C e 600°C, gerando as frações sólida (carvão), líquida (bio-óleo) e gasosa como pode ser visto no esquema da Figura 5.

Figura 5 - Esquema de pirólise para obtenção de carvão, bio-óleo e gases não condensáveis.



Fonte: Bridgwater et al, 1999.

As frações obtidas no processo são amplamente utilizadas industrialmente para a produção de combustíveis e solventes químicos, por exemplo (LORA e ANDRADE, 2004; ROY et al., 2017; BRIDGWATER, 2012; YAMAN, 2004). Os produtos de pirólise possuem alto valor energético e seu aproveitamento nessa vertente inclui câmaras de combustão, turbinas e motores a diesel muito embora a sua utilização direta, principalmente no último caso, seja limitada por características inerentes ao processo (CHIARAMONTI et al., 2007; RADLEIN, 2010).

A pirólise pode ser operada sob variadas condições, de forma catalisada ou não, caracterizando três subgrupos classificatórios que levam em consideração o quão rápido o processo acontece, podendo ser lenta, rápida ou *flash*. As condições de processo empregada em cada tipo de pirólise determina a natureza do produto final (VARMA e MONDAL, 2017).

A pirólise lenta, também conhecida como carbonização, possui baixas taxas de aquecimento (0,1-2°C/min), baixas temperaturas e longos tempos de residência. Neste

processo, a fase sólida é priorizada, é a técnica mais antiga utilizada na produção de carvão vegetal (ANTAL e GRONLI, 2003; DHYANI e BHASKAR, 2018).

No processo de pirólise rápida, o reator é operado em temperaturas intermediárias, variando de 300°C a 500°C. O principal produto é o bio-óleo, mas as outras frações também são obtidas de forma proporcional havendo unidades que são acionadas apenas utilizando o próprio carvão obtido (HORNUNG et al., 2011).

A pirólise flash ou instantânea é uma tecnologia avançada para a produção altamente rentável do ponto de vista da fase líquida. Ao contrário da pirólise lenta, as taxas de aquecimento são altas bem como as temperaturas de operação que chegam a ultrapassar 700°C (SABER et al., 2016).

3.3.1 Pirólise de microalgas

A utilização de microalgas como matéria-prima para o processo de pirólise tem despertado interesse crescente nos últimos anos e segundo Saber et al. (2016), o entusiasmo das empresas na busca desse tipo de tecnologia vem estimulando pesquisas na área, abrangendo tanto a esfera industrial quanto a científica. Os mesmos autores trazem, em seu estudo, uma relação, em âmbito mundial, com as principais empresas envolvidas no desenvolvimento de combustíveis provenientes de algas, há um destaque evidente para os Estados Unidos que aparecem com maior frequência como pode ser visto na Tabela 1.

Hong et al. (2017) estudaram a produção de gás de síntese a partir de diferentes microalgas, via pirólise utilizando micro-ondas, e concluíram que o gênero *Chlorella* favorece a produção de bio-óleo, enquanto o gênero *Porphyra*, por exemplo, mostrou-se adequado para a produção de gás. O interesse por informações de como aproveitar até os resíduos das microalgas levou Bui et al. (2016) a buscarem um aprofundamento cinético da pirólise destes resíduos após extração de lipídeos da biomassa. A pirólise dos resíduos de microalgas é considerada indireta, já quando a célula integral é utilizada é chamado de pirólise direta.

Além dessas, há a co-pirólise, que envolve tipos diferentes de biomassa. Geralmente a co-pirólise é considerada uma opção para *upgrading* do bio-óleo obtido pois essa combinação de biomassas pode reduzir a formação de compostos oxigenados, melhorando a qualidade do produto (GUO et al., 2017).

Tabela 1 - Relação de empresas representativas que comercializam combustíveis de algas.

Companhia	País
Algae. Tec	Austrália
Algenol	Estados Unidos
Aurora Algae Inc.	Estados Unidos
Algae Link	Holanda
ALG Western Oil	África do Sul
AlgaFuel	Portugal
BP	Inglaterra
BRTeam	Irã
Chevron	Estados Unidos
DENSO Corporation	Japão
Diversified Energy	Estados Unidos
Eni	Itália
Euglena	Japão
Greon	Bulgária
Green Fuel Technologies	Estados Unidos
IHI Corporation	Japão
Inventure	Estados Unidos
Isuzu Motors	Japão
LiveFuels	Estados Unidos
Neste Oil	Finlândia
OilFox	Argentina
Pond Biofuels	Canadá
Sapphire Energy	Estados Unidos
Solix	Estados Unidos
Total	França
Varicon Aqua Solutions	Reino Unido

3.4 BIO-ÓLEO

O bio-óleo é o produto líquido proveniente do processo de pirólise. Também conhecido como alcatrão e óleo bio-bruto, ele é constituído por um líquido bastante viscoso, de cor marrom

e possui elevado valor energético. As propriedades físico-químicas do bio-óleo não são fixas pois dependem do processo de pirólise escolhido. Além disso, as características da matéria-prima também influenciam o produto final (AZIZI et al., 2017). Mesmo assim, a composição básica de bio-óleo inclui hidrocarbonetos, ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, benzeno, fenol, compostos oxigenados e nitrogenados (ISAHAK et al., 2012).

O bio-óleo produzido a partir de biomassa de microalgas apresenta algumas vantagens em relação ao bio-óleo da biomassa lignocelulósica. A exemplo da ausência de lignina, que facilita o processamento da matéria-prima, ademais, vale destacar que o teor de oxigênio no produto é menor quando se utiliza biomassa de microalgas o que o torna mais estável. Em contrapartida, o teor de nitrogênio no bio-óleo é menor quando proveniente de biomassa lignocelulósica (AZIZI et al., 2017).

4 METODOLOGIA

4.1 CULTIVO DE MICROALGAS

4.1.1 Inóculo e produção de biomassa

O inóculo foi preparado em caldo nutritivo sintético WC modificado proposto por Guillard e Lorenzen (1972) e mantido por 5 dias sob aeração e luz artificial com alternância de 12 h de claro e 12 h de escuro. A seguir, na Tabela 2, é apresentada a composição do meio WC utilizado.

Tabela 2 - Composição do meio WC.

Reagente	Concentração (g/L)
Cloreto de Cálcio	0,06
Sulfato de Magnésio	0,07
Bicarbonato de Sódio	0,03
Fosfato de Potássio Dibásico	0,02
Nitrato de Sódio	0,17
Sílica Branca	Traços
Hidróxido de Sódio	Traços
EDTA Sódico	Traços
Cloreto de Ferro III	Traços
Sulfato de Cobre	Traços
Sulfato de Zinco	Traços
Cloreto de Cobalto II	Traços
Cloreto de Manganês II	Traços
Molibdato de Amônio	Traços
Ácido Bórico	Traços

4.1.2 Produção de biomassa rica em proteínas (BP)

Para a produção de biomassa rica em proteínas, foram adicionados 10 % de inóculo com concentração média de 0,0051g/L de células para preparação, em triplicata, de 20 L de meio. A

biomassa foi cultivada durante 10 dias, em recipientes de polipropileno de volume total de 50 L, sob luz natural com iluminação média de 90 Klux e aeração contínua de 0,75 vvm.

4.1.3 Produção de biomassa rica em carboidratos (BC)

A biomassa rica em carboidratos seguiu o padrão inicial para a produção de BP, utilizando 10% de inóculo com concentração média de 0,026 g/L de células para preparação, em triplicata, de 20 L de meio em recipientes de polipropileno de volume 50 L, sob luz natural com iluminação média de 84,6 Klux e aeração contínua de 0,5 vvm. Após o décimo dia, adotou-se a estratégia de alimentação dos tanques com adição de 10 g de carbono orgânico (glicose) e 100 mL do caldo nutritivo WC modificado com a depleção da fonte de nitrogênio. O cultivo foi interrompido no 30º dia pois a produção de biomassa rica em carboidratos exige que o tempo de cultivo seja suficiente para que as microalgas entrem em fase estacionária, onde há o maior acúmulo de açúcares na célula (Moura et al., 2006).

4.1.4 Produção de biomassa rica em lipídeos (BL)

A biomassa rica em lipídeos seguiu o padrão inicial para a produção de BP, utilizando 10% de inóculo com concentração inicial média de 0,031 g/L de células para preparação, em triplicata, de 20 L de meio em recipientes de polipropileno de volume 50 L, sob luz natural com iluminação média de 91,3 Klux e aeração contínua de 0,5 vvm. De forma semelhante ao cultivo de BC, após o décimo dia foi adotada a estratégia de alimentação dos tanques com adição de 10 g de carbono orgânico (glicose) e 100 mL do caldo nutritivo WC modificado com a depleção da fonte de nitrogênio, com a diferença do tempo de cultivo que foi estendido para 45 dias.

4.1.5 Cinética do crescimento das biomassas

O comportamento da curva de crescimento da biomassa nos diferentes meios de cultivo foi acompanhado através de análises feitas em intervalos máximos de 72 h. Alíquotas foram retiradas dos fotobiorreatores e analisadas em espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado em 570 nm, obtendo-se a concentração da biomassa em g/mL (REDAELLI et al., 2010). A Equação 1 foi utilizada para a determinação da velocidade máxima de crescimento da

da biomassa levando em consideração a inclinação da tangente à curva de crescimento obtida (SCHMIDELL et al., 2001).

$$r = \frac{dx}{dt} \quad (1)$$

4.2 SECAGEM DA BIOMASSA

As respectivas biomassas ricas em carboidratos (BC), lipídeos (BL) e proteínas (BP) foram decantadas e posteriormente centrifugadas a 10^4 g. Em seguida, as biomassas foram secas em estufa de circulação de ar a temperatura de 60°C até adquirirem peso constante. As biomassas foram armazenadas a temperatura ambiente em recipientes de vidro com tampa.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOMASSAS

A caracterização das biomassas foi realizada para cada cultivo com o intuito de determinar seus perfis composicionais. Afim de avaliar as diferenças estatísticas entre as médias de resultados obtidos o teste T foi aplicado.

4.3.1 Teor de proteínas

A determinação do teor de proteínas seguiu a metodologia sugerida por Lowry et al. (1951). Para tanto, pesou-se 5 mg de biomassa previamente seca e macerada em um tubo eppendorf. Em seguida foram adicionados 0,5 mL de água destilada e 0,5 mL de solução de dodecil sulfato de sódio (preparada a 10% (m/v) adicionando 15 % (v/v) de glicerol e completando 100 mL com água destilada). As amostras foram, então, homogeneizadas e, posteriormente, incubadas em banho-maria fervente por 5 min. Ao retirar as amostras do banho-maria, as mesmas foram novamente homogeneizadas e seguiram para a centrífuga para separar a biomassa do sobrenadante o qual foi diluído 30 vezes antes de seguir para a análise colorimétrica.

Para a análise colorimétrica, três soluções foram preparadas: a primeira dissolvendo 2g de carbonato de sódio em 100 mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 M, a segunda utilizando 25g de sulfato de cobre para preparar 50 mL de solução e a terceira contendo 0,5g de tartarato de sódio em 50 mL de água destilada.

No momento da análise, cada amostra deve receber 4,5 mL de uma mistura entre as três soluções considerando a seguinte proporção: 100 volumes da primeira solução, 1 volume da segunda solução e 1 volume da terceira solução. Em seguida, uma solução estoque de folin 2N foi diluída em água destilada usando a proporção 1:2 e cada amostra recebeu 0,5 mL dessa solução diluída.

Com os compostos colorimétricos já adicionados, as amostras foram homogeneizadas e aguardaram 30 min para leitura a qual foi realizada em espectrofotômetro SP-220 Biospectro sendo o comprimento de onda de 750 nm.

A análise completa foi feita em triplicata para cada amostra.

4.3.2 Teor de carboidratos

A determinação do teor carboidratos seguiu a metodologia descrita por Dubois et al. (1956). O procedimento fez a extração do carboidrato da amostra com 5 mg de biomassa, previamente seca e macerada, utilizando 2 mL de hidróxido de sódio 1 N durante banho-maria a 40°C com duração de 1h. Após esfriar até temperatura ambiente, a amostra foi centrifugada e 1 mL do sobrenadante foi pipetado sendo adicionado ao mesmo 500 µL de fenol 5% (m/v) e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Após preparação, o tempo de reação de 10 min foi esperado para então agitar as amostras e leva-las ao banho-maria à 30°C por 20 min. Com o resfriamento das amostras até temperatura ambiente, a leitura foi feita em espectrofotômetro SP-220 Biospectro sendo o comprimento de onda de 490 nm.

A análise completa foi feita em triplicata para cada amostra.

4.3.3 Teor de lipídeos

A quantidade de lipídeos que compõe a biomassa foi determinada pela metodologia proposta por Blight e Dyer (1959). Para tanto, pesou-se 50 mg da biomassa previamente seca e macerada em tubo falcon onde foi adicionado 200 µL de água destilada, 2 mL de metanol e 1 mL de clorofórmio. A amostra foi agitada a cada 5 min durante o tempo total de 1 h. Em seguida, a amostra foi centrifugada e o sobrenadante coletado. A biomassa foi ressuspensa utilizando 1 mL de metanol e 2 mL de clorofórmio, o procedimento de agitação a cada 5 min durante o tempo total de uma h foi novamente realizado. Ao fim, o sobrenadante coletado

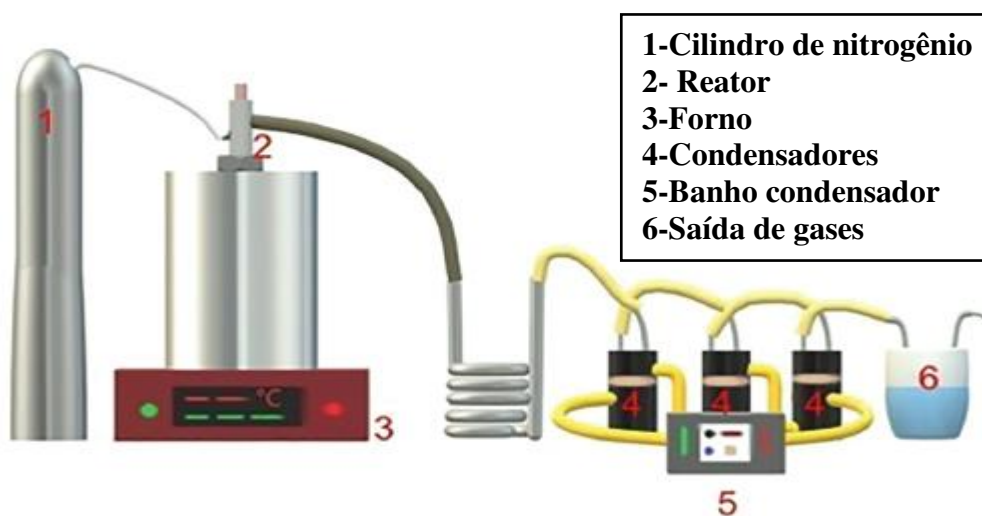
anteriormente foi adicionado a suspensão atual da biomassa e à mistura foi acrescentado 1 mL de água destilada. Novamente a amostra foi submetida a centrifugação da qual resultou três fases: uma superior polar, a biomassa fica ao meio e a inferior é a fase orgânica a ser coletada. A mesma é transferida para placa de Petri vidro previamente pesada para então ser seca em estufa a 60°C até peso constante com intuito de evaporar o solvente presente. A quantificação de lipídeos totais é feita por gravimetria.

A análise completa foi feita em triplicata para cada amostra.

4.4 PIRÓLISE E EXTRAÇÃO DO BIO-ÓLEO

O material foi pirolísado no Laboratório de Análises de Compostos Orgânicos Poluentes (LCP) situado no Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe. O processo contou com pré-aquecimento do reator até temperatura de 500°C. A biomassa só foi depositada no reator após estabilidade da temperatura, sendo a pirólise da mesma ocorreu em atmosfera inerte de gás nitrogênio com fluxo de 5 ml/min. Apesar da reação acontecer de forma rápida, o reator só foi desligado 1h após a alimentação do reator ter sido efetuada. Após o resfriamento do sistema, o bio-óleo foi coletado juntamente com a água de pirólise. Logo em seguida, o bio-óleo foi separado através de uma extração líquido-líquido com diclorometano. A pirólise foi repetida da mesma forma para cada biomassa com composição própria. As pirólises de BP e BC foram realizadas em triplicata e a pirólise de BL foi realizada em duplicata. A figura 6 apresenta um diagrama esquemático da configuração dos equipamentos utilizados na pirólise.

Figura 6 - Diagrama esquemático dos equipamentos utilizados na pirólise.



Fonte: Santos et al., 2019.

4.5 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE BIO-ÓLEO

A cromatografia em fase gasosa (GC/MS) foi usada para caracterizar os bio-óleos obtidos a partir das biomassas de *Chlorella vulgaris* provenientes de diferentes cultivos. As análises foram feitas em triplicata para os bio-óleos obtidos a partir de BP e BC e em duplicata para o bio-óleo obtido a partir de BL. Antes da análise, as amostras foram derivatizadas partindo da pesagem de cerca de 10 mg do bio-óleo em *vial* de 1,5 mL, seguindo com diluição até o volume de 1 mL utilizando DCM. Dessa solução, uma alíquota de 100 μL foi transferida para outro *vial*, também de 1,5 mL no qual 50 μL de Piridina e 50 μL do derivatizante N,O-bis(trimetilsilil)tetrafluoroacetamida (BSTFA) e 800 μL de diclorometano foram acrescentados. A solução foi homogeneizada e deixada em banho de areia de aproximadamente 60°C por um tempo de aproximadamente 45 min. Após as amostras atingirem temperatura ambiente, seguiram para análise cromatográfica.

As amostras de bio-óleo previamente derivatizadas foram analisadas usando um cromatógrafo a gás modelo QP2010 Plus da marca Shimadzu, utilizando hélio (99,999% de pureza) como gás de arraste a fluxo de 1 mL min⁻¹. As condições cromatográficas para as análises estão descritas abaixo na Tabela 3.

Tabela 3 - Condições cromatográficas para análise dos bio-óleos.

Parâmetros	GC/MS
Coluna	ZB-5MS – 5% fenil 95% dimetilpolisiloxano (60 m x 0,25 mm x 0,25 μm)
Split / Volume Injetado	1:20 / 1,0 μL
Temperatura do Injetor	280°C
Temperatura do Detector	300°C
Programação da Rampa	100°C (2 min) – 2°C min ⁻¹ – 120°C (5 min) – 2°C min ⁻¹ – 160°C – 5°C min ⁻¹ – 225°C (15 min) – 20°C min ⁻¹ – 280°C (5 min)
Modo de operação do Espectro Massas	Modo Scan, com ionização de 70 eV
Tempo de Análise	79,8 min

Os compostos foram identificados utilizando o banco de dados da biblioteca NIST, estabelecendo o perfil para cada bio-óleo e esses foram comparados com as respectivas composições iniciais das biomassas BP, BC e BL de *C. vulgaris*.

O teste estatístico T foi utilizado afim de avaliar as diferenças entre as médias dos valores percentuais referentes às porcentagens dos grupos químicos encontrados nos bio-óleos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CULTIVO E CINÉTICA DE CRESCIMENTO

Para os cultivos da microalga *Chlorella vulgaris*, foram aplicadas diferentes técnicas combinando tempo, depleção e/ou adição de nutrientes para o estímulo de metabolismos distintos da célula, resultando em biomassas com características próprias tal qual suas curvas de crescimento. As Figuras 7, 8 e 9 são imagens do aspecto visual de BP, BC e BL, respectivamente.

Figura 7 - Aspecto visual da biomassa seca rica em proteínas (BP).



Figura 8 - Aspecto visual da biomassa seca rica em carboidratos (BC).



Figura 9 - Aspecto visual da biomassa seca rica em lipídeos (BL).



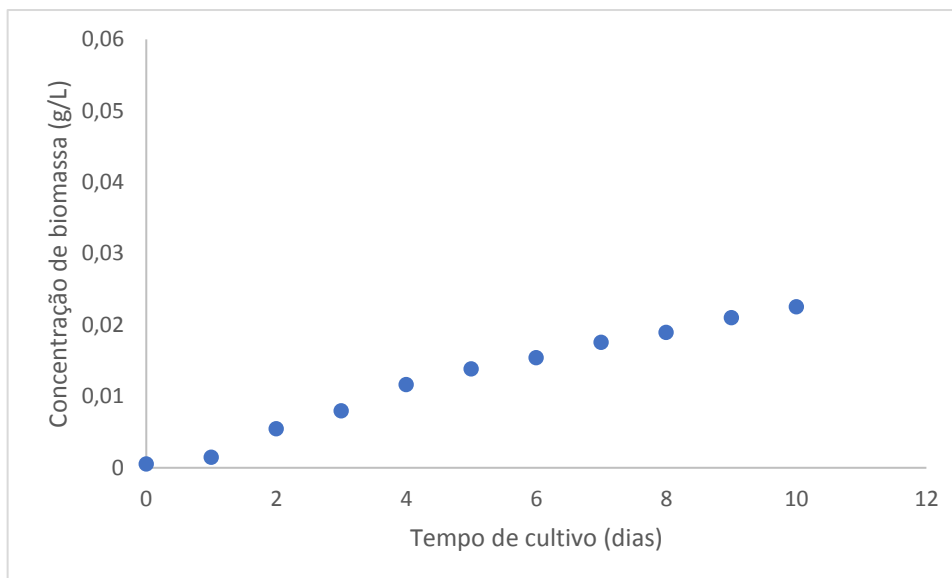
Nota-se que a biomassa com menor tempo de cultivo apresenta-se com coloração mais verde e à medida que o tempo de cultivo vai aumentando e as técnicas de nutrição são aplicadas, a coloração que se observa é mais amarelada. Quando há abundância de nutrientes, as células alcançam maiores taxas fotossintéticas, apresentando maiores teores de clorofila. Com o início da depleção de fontes de nitrogênio, a produção de moléculas energéticas como a adenosina trifosfato (ATP) é prejudicada, prejudicando o metabolismo vinculado à fotossíntese, e, conseqüentemente diminuindo a quantidade de clorofila existente na célula uma vez que a mesma já não é necessária em grandes quantidades. Segundo Ho et al. (2012), é nesse momento que as rotas de produção de biomoléculas de acúmulo energético são ativadas nas células sendo o acúmulo de lipídeo, especificamente, inversamente proporcional às taxas fotossintéticas o que justifica a coloração mais amarelada de BL.

A Figura 10 apresenta a cinética de crescimento da biomassa rica em proteínas (BP). A curva mostra uma pequena fase de adaptação da célula, fase Lag, a qual pode ser justificada pela preparação do inóculo em meio igual ao utilizado para o cultivo. Além disso, pode-se ver claramente que o mesmo foi interrompido ainda na fase exponencial na qual a velocidade de crescimento é máxima e para esse caso, atingiu 2,3 mg/L.dia. Ou seja, o cultivo foi encerrado quando a produção celular estava em sua maior taxa (SCHMIDELL et al., 2001).

No geral, constata-se que cultivos de curta duração com abundâncias de nutrientes resultam em células com alto teor proteico. O metabolismo microalgal necessita de um período de adaptação, assim como qualquer outro microrganismo, seguido por um período de crescimento no qual a produção de novas células acontece com a maior velocidade no seu ciclo de vida. A justificativa para a maior obtenção de proteínas nessa fase é que as mesmas são

responsáveis por funções estruturais, regulação e transporte, por exemplo, o que é fundamental para a formação de novas células (LEHNINGER et al., 2000).

Figura 10 - Curva de crescimento da biomassa rica em proteínas (BP).

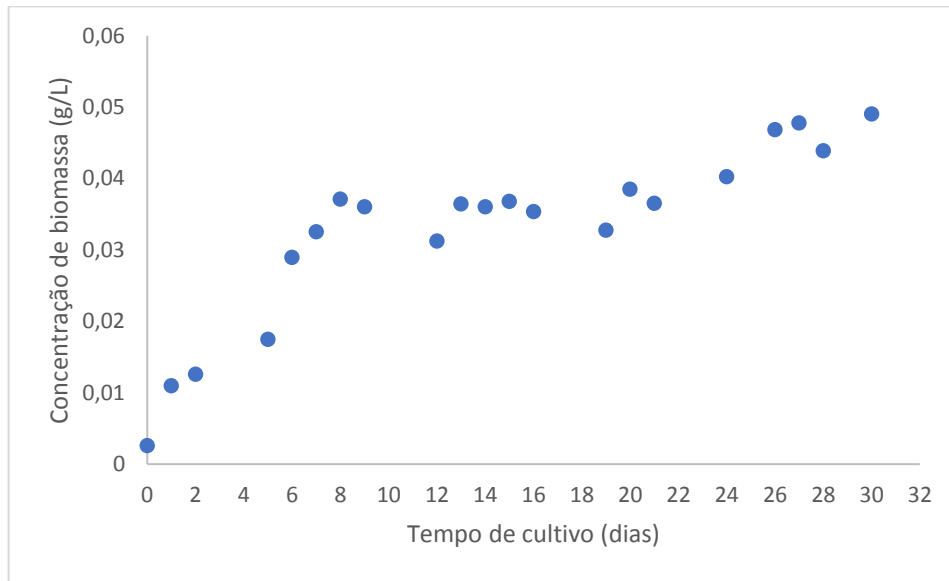


O acúmulo de carboidratos e lipídeos levam um pouco mais de tempo. A Figura 11 e a Figura 12 apresentam a cinética de crescimento da biomassa rica em carboidratos (BC) e da biomassa rica em Lipídeos (BL), respectivamente.

As estratégias utilizadas no cultivo de BC levam a um comportamento de crescimento diferente quando comparado às curvas de crescimento tradicionais. Ainda assim percebe-se que a fase inicial, Lag, foi extremamente curta, seguida por uma expressiva fase exponencial de curta duração e, ao início da depleção de nitrogênio e acréscimo de carbono orgânico, observa-se um lento crescimento com oscilações ocasionadas pelos dias de alimentação dos tanques com novos nutrientes, no entanto, o comportamento indica a fase estacionária de crescimento na qual as velocidades de produção de novas células é praticamente igual à velocidade de morte celular. Para esse cultivo, a velocidade máxima de crescimento apresentada na fase exponencial foi de 4,3 mg/L.d.

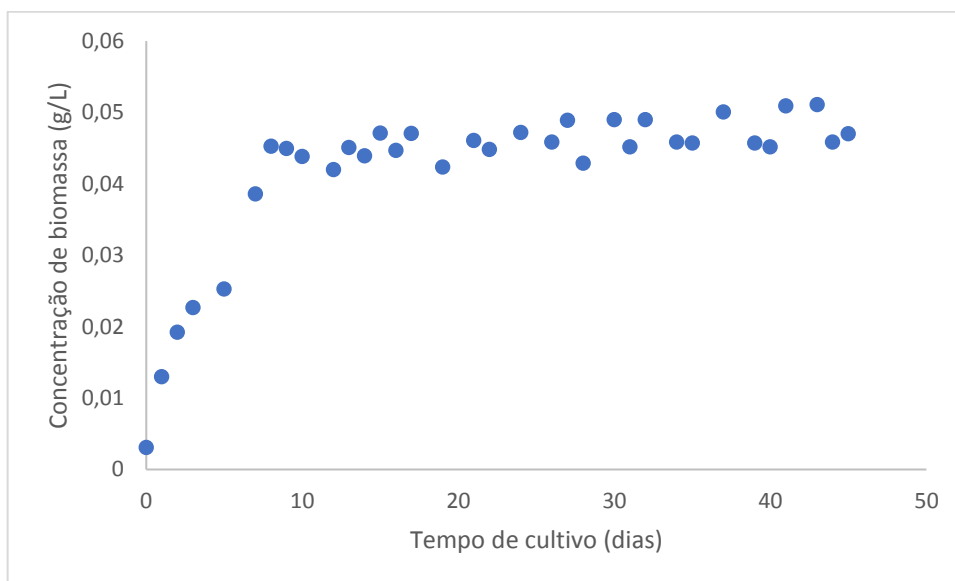
As estratégias utilizadas para o cultivo de BL não diferem muito das utilizadas no cultivo de BL exceto pelo tempo no qual as técnicas foram aplicadas, o que reflete na semelhança existente entre as curvas de crescimento obtidas para as duas biomassas e que pode ser constatada ao se comparar a Figura 11 e a Figura 12.

Figura 11 - Curva de crescimento da biomassa rica em carboidratos (BC).



Assim como no cultivo para BC, a curva de crescimento para BL apresentou uma curta fase Lag seguida de uma fase exponencial que durou, aproximadamente, até o oitavo dia de cultivo. O crescimento lento, juntamente com as oscilações, também foi semelhante ao comportamento da curva de BC, sendo que a velocidade máxima de crescimento atingido para esse cultivo foi de 4,6 mg/L.dia, o que justifica o alcance de maior produção de biomassa no último cultivo.

Figura 12 - Curva de crescimento da biomassa rica em lipídeos (BL).



Segundo Moura et al., (2006) para que os carboidratos comecem a ser acumulados eficientemente, o cultivo deve atingir o estado estacionário de crescimento, o que pode ser observado na curva apresentada pela Figura 11. O que não é muito diferente para lipídeos como pode ser visto na Figura 12, isso acontece porque o acúmulo de moléculas energéticas apresenta similaridade em grande parte do seu caminho metabólico.

Douskova et al. (2009) afirmam que a depleção de nutrientes a base de nitrogênio e fósforo pode diminuir a produção de proteínas e favorecer as rotas metabólicas para a produção de maiores quantidades de carboidratos e lipídeos. Nitrogênio e fósforo compreendem os elementos essenciais para a produção de adenosina trifosfato, ATP, e a limitação desses elementos prejudica a síntese de proteínas na célula. Conseqüentemente, a deficiência em ATP afeta as funções celulares e direciona o metabolismo para o acúmulo de carboidratos e lipídeos (MARKOU, 2012).

Siaut et al. (2011) afirmam que há uma competição metabólica para a produção desses dois compostos, porém o que se observa é que a síntese de carboidratos ocorre primeiro que a de lipídeos, o que justifica o comportamento metabólico observado por BC e BL, sendo essa cultivada por um maior espaço de tempo com depleção de nitrogênio resultando no maior teor de lipídeos dentre as biomassas obtidas, reforçando o que afirma a literatura.

Os dois cultivos atingiram a fase estacionária e sofreram estresse com a depleção de nitrogênio. A primeira resposta metabólica foi a produção acentuada de carboidratos, com posterior acúmulo de lipídeos pelo prolongamento do tempo de cultivo. Esse aumento de carboidratos e lipídeos nas células microalgais está relacionado ao processo de fixação de dióxido de carbono durante o ciclo de Calvin no processo fotossintético, o que indica a necessidade de manter as células sob excesso desse composto para maior eficácia na produção e armazenamento dessas biomoléculas (BARBOSA e TORRES, 1998).

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOMASSAS

O estímulo das células microalgais através do tempo de cultivo e estresse nutricional proporcionou a produção de células com diferentes composições.

A Tabela 4 expressa a composição celular obtida para as três biomassas cultivadas (BP, BC e BL) e para os estudos de Zainan et al. (2018) e Maliutina et al. (2018). Os teores apresentados demonstram que pode haver uma grande variabilidade no acúmulo de

biomoléculas nas células de *C. vulgaris*, o que depende diretamente das circunstâncias e técnicas de cultivo.

Os teores de proteínas obtidos para BP, BC e BL após cultivos de 10, 30 e 45 dias respectivamente apontam que o período no qual a máxima quantidade dessa biomolécula é produzida encontra-se na fase exponencial do crescimento microbiano. Como pode ser visto na Tabela 4, os valores de proteínas para o presente estudo são 43,69% para BP, 28,11% para BC e 8,30% em BL, sendo essas porcentagens estatisticamente diferentes.

Tabela 4 - Composição percentual da célula de *Chlorella vulgaris* obtidas em diferentes estudos. As biomassas BP, BC e BL representam composição majoritária em proteínas, carboidratos e lipídios, respectivamente.

Composição (%)	Nosso estudo			Zainan et al. (2018)	Maliutina et al. (2018)
	BP	BC	BL		
Proteínas	43,69 ^{a*}	28,11 ^{b*}	8,30 ^{c*}	54,70	56,44
Carboidratos	27,83 ^{d*}	44,39 ^{e*}	44,68 ^{e*}	19,20	17,30
Lipídeos	10,00 ^{f*}	11,00 ^{f*}	34,00 ^{g*}	25,70	12,40

*Letras iguais indicam que não há diferença significativa e letras diferentes indicam que há diferença significativa entre as médias segundo o teste T.

Todos os valores obtidos foram inferiores aos apresentados por Zainan et al. (2018) e Maliutina et al. (2018). Esses utilizaram em seus estudos *Chlorella vulgaris* de origem comercial enquanto Zainan et al. (2018) fizeram cultivo da biomassa da mesma espécie em meio contendo nitrato, fosfato, citrato, metais e vitaminas por um período de 14 dias. A variação temporal na interrupção dos cultivos pode ser a razão da diferença entre o máximo encontrado neste estudo e o apresentado pela literatura na Tabela 4 uma vez que a base nutricional utilizada foi bastante semelhante à do presente estudo.

Se tratando de carboidratos, os teores obtidos foram 27,83% para BP, 44,39% para BC e 44,68% para BL. Após teste estatístico T, pode-se afirmar que só há diferença significativa para o teor obtido em BP, sendo os teores de BC e BL valores estatisticamente iguais. Sendo assim, quando o objetivo é a produção de carboidratos, pode-se utilizar tanto o cultivo de BC ou de BL, porém como o tempo utilizado na produção de BC é reduzido, obter carboidratos por essa opção torna-se mais viável pela maior produtividade. Ao observar a Tabela 4, nota-se que

todos os teores apresentados neste estudo são maiores que os descritos por Zainan et al (2018) e Maliutuna et al. (2018).

Em relação aos lipídeos, os valores obtidos foram 10% para BP, 11% para BC e 34% para BL, valor esse superior inclusive ao obtido por Zainan et al. (2018) que chegou a apresentar o dobro de teor lipídico quando comparado ao alcançado por Maliutina et al., (2018).

Pelo teste estatístico, constata-se que não há diferença significativa entre os teores apresentados por BP e BC, indicando que é crucial que haja maior tempo de privação de nitrogênio para que a célula produza e armazene lipídeos de forma eficaz. O que se observa é que há uma variação substancial para os valores característicos de cada cultivo, o que indica que as condições nas quais as células são cultivadas interagem entre si para o estímulo ou inibição dos metabolismos responsáveis pela síntese e armazenamento de diferentes biomoléculas.

Como a ausência de nitrogênio pretere a produção proteica, a produtividade da biomassa foi mantida com o estímulo do metabolismo heterotrófico através da adição de carbono orgânico como indicado por Derner et al. (2006). Além disso, Ho et al. (2011) descrevem que quanto maior o período de privação de nitrogênio ao qual a microalga é exposta, maior é o acúmulo lipídico em suas células.

No presente estudo, elevados valores para o teor de carboidratos foram obtidos em BC e BL e, ainda, com a extensão de tempo de cultivo de BL, uma biomassa também rica em lipídeos, chegando a atingir 34% em sua composição, o que corrobora com o fato de que quanto maior o período de depleção de nitrogênio, maior o acúmulo de lipídeos.

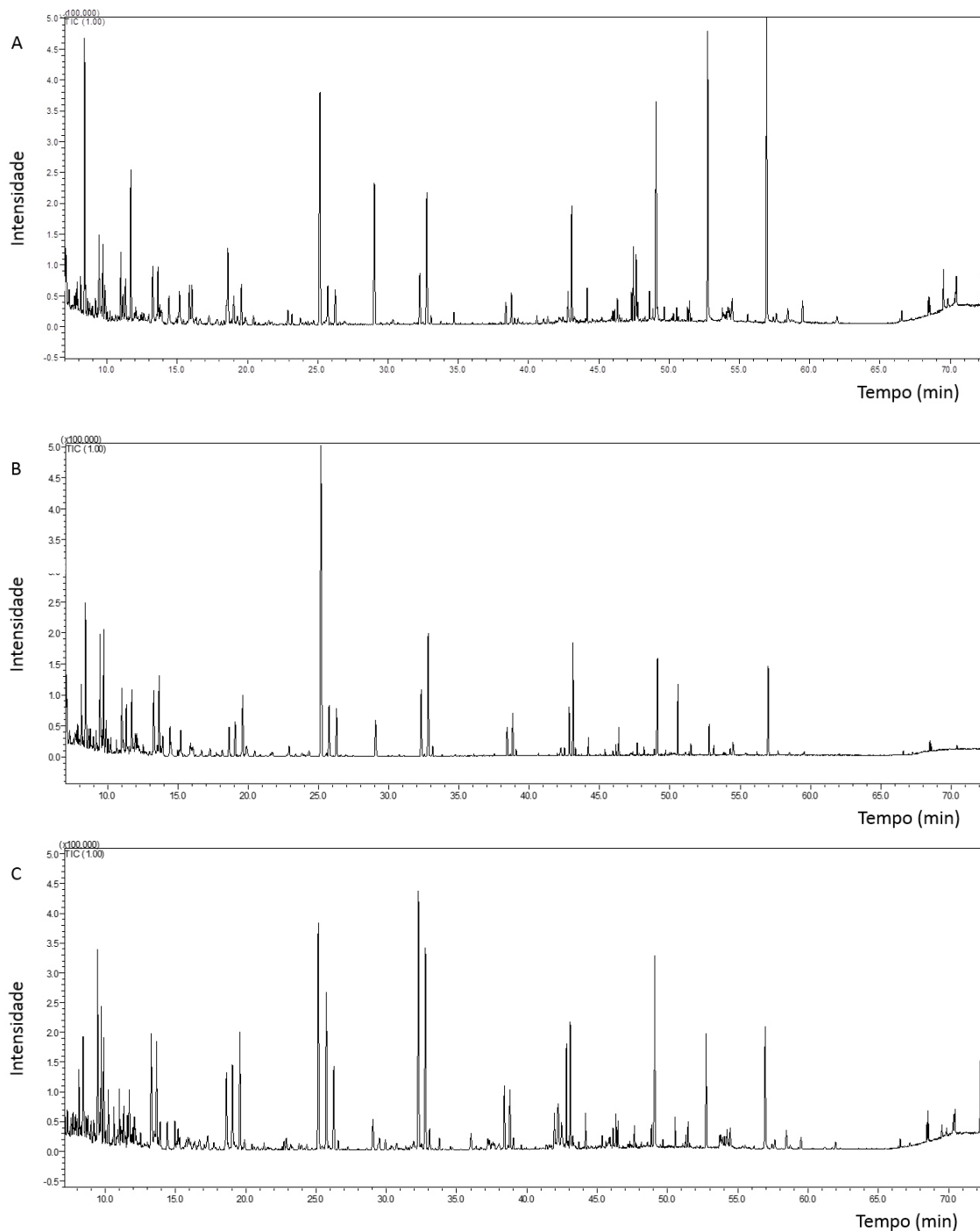
5.3 PERFIL DE BIO-ÓLEO

Conforme discutido anteriormente, a microalga *C. vulgaris* é majoritariamente composta por lipídeos, carboidratos e proteínas assim como as demais microalgas. Cada um desses componentes celular (proteínas, carboidratos e lipídeos) possui degradação característica quando submetidos a pirólise, sendo assim, a produção de biomassas com diferentes quantidades desses compostos retorna bio-óleos com perfis próprios.

Segundo Yang et al. (2019) cada um desses componentes contribui diferentemente para a composição do produto pirolítico uma vez que eles também interagem entre si. Isso significa que mesmo com condições de pirólise fixas, as características da matéria-prima influenciam diretamente no perfil e qualidade do bio-óleo produzido. Os cromatogramas referentes a cada

um dos bio-óleos obtidos a partir da pirólise das biomassas BP, BC e BL são apresentados na Figura 13.

Figura 13 - Cromatogramas dos bio-óleos provenientes de BP (A), BC (B) e BL (C).

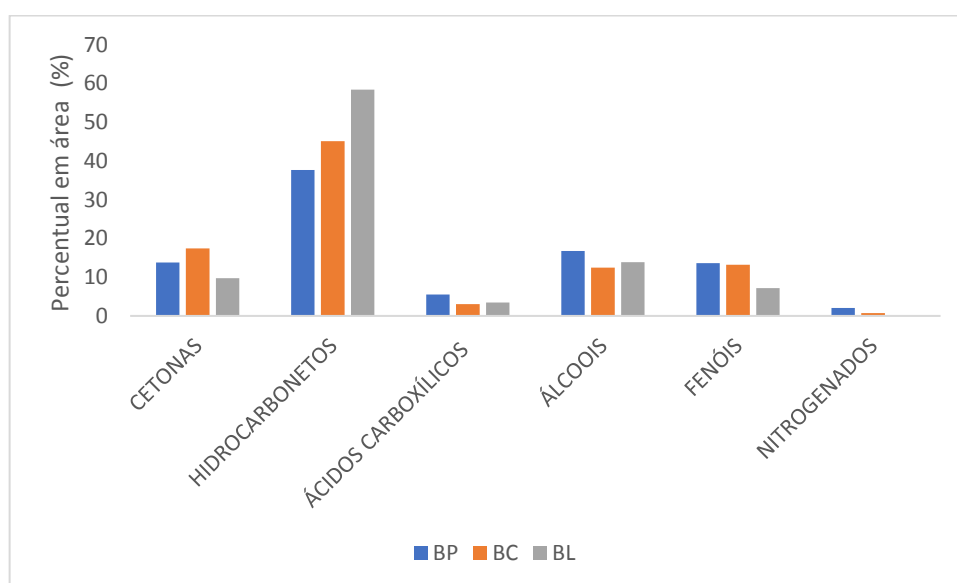


Os perfis distintos das biomassas, apresentados no item 5.2, geram bio-óleos com características também distintas, seja pelos compostos que estão representados nos cromatogramas ou pela intensidade dos picos nos mesmos. Isso indica que, além do perfil da

biomassa influenciar nos compostos constituintes do bio-óleo, ele também influenciará o quanto cada composto será produzido durante o processo de pirólise.

As substâncias identificadas nos bio-óleos a partir da análise de GC/MS foram separadas em categorias a partir de suas características químicas e estão representadas no gráfico da Figura 14.

Figura 14 - Gráfico comparativo das composições médias dos bio-óleos provenientes das biomassas com maior teor de proteínas (BP), biomassa com maior teor de carboidratos (BC) e biomassa com maior teor de lipídeos (BL).



Como as células, principalmente, de BP e BC possuem porcentagens consideráveis de proteínas, era esperado que os compostos nitrogenados aparecessem de forma mais expressiva. Porém, os bio-óleos provenientes de BP, BC e BL apresentaram 2,01%, 0,73% e 0,16% em compostos nitrogenados, respectivamente. Os valores obtidos concordam com o teor de proteínas da biomassa, uma vez que BL apresentou o menor percentual e BP o maior.

A baixa porcentagem de compostos nitrogenados nos leva a acreditar que os aminoácidos presentes nas proteínas da célula microalgal estudada possuem cadeias laterais que podem ser separadas do radical nitrogenado durante as reações para formar uma diversidade de compostos. Segundo Yang et al. (2019) as reações envolvendo os aminoácidos presentes na biomassa durante a pirólise podem incluir desaminação, metilação, desidratação, descarboxilação e dimerização.

A biomassa rica em proteínas, BP, além de deter a maior porcentagem de compostos nitrogenados, também apresentou maior variabilidade do mesmo, a exemplo do 3-pyridinecarbonitrila e N-(2-methylphenyl)-3-trimethylsilyloxybut-2-enamida que são encontrados apenas no bio-óleo da amostra de BP (Apêndice A).

Os estudos revelam que quanto maior a quantidade de proteínas existente na matéria-prima, maior é a expressão dos componentes nitrogenados no bio-óleo formado, como a presença dos indóis, pirróis e nitrilas. Esse fato pode ser verificado no estudo realizado por Chagas et al. (2016) utilizando biomassa de *Spirulina* sp. com grande carga proteica.

Em relação aos hidrocarbonetos, a Figura 14 revela que estes possuem maior representatividade percentual em todos os bio-óleos analisados. As quantidades são de 37,68%, 45,10% e 58,47% para os bio-óleos provenientes de BP, BC e BL, o qual possui média, segundo o teste T, estatisticamente diferente dos dois primeiros.

Os valores da caracterização das biomassas apresentados na Tabela 4 demonstram que associar apenas lipídeos a produção de hidrocarbonetos é um equívoco. BL apresenta 34% em lipídeos e 58,47% de hidrocarbonetos em seu bio-óleo. Enquanto que o bio-óleo com 45,10% de hidrocarbonetos é proveniente de BC, biomassa esta que apresenta apenas 11% de lipídeos.

Estudos descritos por Maher e Bressler (2007) indicam que a pirólise de triglicerídeos apontaram como produtos os hidrocarbonetos, cetonas, ácidos carboxílicos e ésteres. As reações sofridas pelos lipídeos durante o processo de pirólise incluem hidrólise, descarboxilação, descarbonilação e desoxigenação. Essas transformações dão origem a ácidos graxos, cetonas, ácidos, aldeídos e oleofinas que por sua vez podem sofrer aromatização, contribuindo para a formação da porção aromática do óleo (Yang et al., 2019; Sotoudehniakarani et al., 2019; Maher e Bressler, 2007).

Já Wang et al. (2017) isolaram a porção lipídica da microalga *Nannochloropsis* sp. e após termoconversão, identificaram um bio-óleo rico em hidrocarbonetos alifáticos, ácidos carboxílicos e ésteres. Contudo, apesar de ser um dos componentes precursores dos hidrocarbonetos durante a pirólise, os lipídeos não são os únicos, o que permite inferir que os carboidratos e proteínas também estão diretamente relacionados com a produção desses compostos.

Além disso, é importante observar que, apesar de os lipídeos produzirem hidrocarbonetos, também podem dar origem a outros compostos como pode ser constatado na literatura e nos dados comparativos apresentados na Figura 14. Tal afirmativa também pode ser estendida a proteínas e carboidratos.

Segundo Yang et al. (2019), a contribuição dos carboidratos presentes nas microalgas é na formação de hidrocarbonetos e compostos furfurais a partir de reações de hidrólise e desidratação. Do mesmo modo, Sotoudehniakarani et al. (2019) associaram a degradação dos carboidratos da sua matéria-prima durante a pirólise à formação de um bio-óleo rico em cetonas, furanos e compostos de baixa massa molar como o anidrido acético.

A degradação térmica proveniente da pirólise não ocorre somente de forma separada por componente. Durante o processo, há várias interações entre os componentes da biomassa, resultando em reações secundárias. É justamente por isso que os componentes formados nos processos de pirólise são tão complexos. A presença de cetonas, álcoois, fenóis, ácidos carboxílicos, hidrocarbonetos e compostos nitrogenados não podem ser associados a um único precursor. As reações na termoconversão são complexas e envolvem interações entre os componentes das microalgas (Zhang et al., 2016).

A destinação de cada bio-óleo depende diretamente da sua composição. Muito embora todos os bio-óleos obtidos nesse estudo apresentem um maior percentual de hidrocarbonetos, destacam-se os bio-óleos provenientes de BC e BL, os quais tornam-se muito interessantes para a produção de combustíveis bem como afirmam Li et al (2008) e Wang et al. (2017).

No entanto, há outros compostos que podem ser utilizados em indústrias químicas. O bio-óleo proveniente de BP, por exemplo, há uma maior expressão de ácidos carboxílicos, álcoois e nitrogenados quando comparado com BL e BC. Segundo Yang et al. (2019) essas substâncias podem ter direcionamento industrial para produção de solventes, fármacos, agroquímicos, fungicidas e a obtenção de outros compostos orgânicos.

6 CONCLUSÃO

A manipulação de tempo de cultivo e estresse nutricional permitem que as células da microalga *Chlorella vulgaris* acionem metabolismos para a síntese e acúmulo de biomoléculas específicas, promovendo a formação de uma biomassa com diferente composição centesimal.

A composição da microalga utilizada como matéria-prima no processo de pirólise influi no perfil de bio-óleo obtido tanto em relação aos seus compostos como nas quantidades dos mesmos na composição geral do bio-óleo.

O estudo revela que é possível fazer uma associação direta entre o perfil da composição celular com a composição do bio-óleo processado, facilitando assim o direcionamento para a aplicabilidade do bio-óleo em diversas áreas.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Acoplamento de dispositivo para coleta da fração gasosa não condensável gerada pela pirólise para posterior análise e estudo;
- Estudo da fração sólida produzida (carvão);
- Aplicação dos bio-óleos produzidos;
- Estudo da influência da variação de parâmetros da pirólise;
- Estudo da influência da utilização de diferentes catalisadores no perfil do bio-óleo obtido.

8 REFERÊNCIAS

- AMIN, S. Review on biofuel and gás production process from microalgae. **Energy Conversion and Mangement**. v. 50, p. 184-1840, 2009.
- ANTAL, M. J.; GRONLI, M. The art, science, and technology of charcoal production. **Industrial and Engineering Chemistry Research**. v.42, p. 1619-1640, 2003.
- AZIZI, K.; MORAVEJI, M.K.; NAJAFABADI, H.A. Characteristics and kinetics satudy of simultaneous pyrolysis of microalgae *Chorella vulgaris*, wood and polypropylene through TGA. **Bioresource Technology**, v.243, p.418-491, 2017.
- BABU, A. G; WU, X.; KABRA, A. N.; KIM, D.P. Cultivation of an indigenous *Chlorella sorokiniana* with phytohormones for biomass and lipid production under N-limitation. **Algal Research**, v. 23, p.178–185, 2017.
- BAI, F.; GUO, W.; LU, X.; LIU, Y., GUO, M.; LI, Q.; SUN, Y. Kinetic study on the pyrolysis behavior of Huadian oil shale via non-isothermal thermogravimetric data. **Fuel**, v.146, p.111-118, 2015..
- BARBOSA, K. K. S.; TORRES, B.B. **Microbiologia básica**. São Paulo: Atheneu, 1998.
- BECKER, E. W. *Microalgae: biotechnology and microbiology*, Cambridge University Press, 1994.
- BLIGH, E. G. and DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae – a review of Technologies for production, processing and extraction of biofuels and coproducts. **Renewable and sustantable energy reviews**, v. 14, p. 557-577, 2010.
- BRIDGWATER, A.V. Review of fast pyrolysis of biomass and product upgrading. **Biomass**

and Bioenergy, v. 38, p. 68-94, 2012.

BRIDGWATER, A. V.; MEIER, D.; RADLEIN, D. An overview of fast pyrolysis of biomass. **Organic Geochemistry**, v. 30, n. 12, p. 1479-1493, 1999

BUI, H.; TRAN, K.; CHEN, W. Pyrolysis of microalgae residues – A kinetic study. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 362-366, 2016.

CHARGAS, B. M. E.; DORADO, C.; SERAPIGLIA, M. J.; MULLEN, C. A.; BOATENG, A. A.; MELO, M. A. F.; ATAÍDE, C. H. Catalytic pyrolysis- GC/MS of *Spirulina*: Evaluation of a highly proteinaceous biomass source for production of fuels and chemical. **Fuel**, v. 179, p. 124-134, 2016.

CHEN, F., JOHNS, M. R. Substrate inhibition of *Chlamydomonas reinhardtii* by acetate in heterotrophic culture. **Process Biochemistry**, v.29, p.245-252, 1994.

CHEN, Y.; CHEN, W.; LIN, B.; CHANG, J.; ONG, H. C. Impact of torrefaction on the composition, structure and reactivity of a microalga residue. **Applied Energy**, v. 181, p. 110-119, 2016.

CHEN, W. H.; LIN, B. J.; HUANG, M. Y.; CHANG J. S. Thermochemical conversion of microalgal biomass into biofuels: A review. **Bioresource Tecnology**, v.184, p. 33114-327, 2015.

CHIARAMONTI, D.; OASMAA, A.; SOLANTAUSTA, Y. Power generation using fastpyrolysis liquids from biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.11, p.1056-1086, 2007.

CHOJNACKA, K.; MARQUEZ-ROCHA, F.J. Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. **Biotechnology**, v.33, n. 1, p. 21-34, 2011.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v.36, n 6, p. 1959-1967, 2006.

DIDEM, O.; BENAN, J. An Overview of Bioethanol Production From Algae. **Biofuels- Status and Perspective**. In Tech, 2015.

DHYANI, V.; BHASKAR, T. A comprehensive review on the pyrolysis of lignocellulosic biomass. **Renewable Energy**, v.129, p. 695-716, 2018.

DONG, T.WANG, J. MIAO, C. ZHENG, Y. CHEN, S. Two-step in situ biodiesel production from microalgae with high free fatty acid content. **Bioresource technology**, v. 136, p. 8-15, 2013.

DOUSKOVA, I.; DOUCHA, J.; LIVANSKY, K.; MACHAT, J.; NOVAK, P.; UMYSOVA, D.; ZACHLEDER, V.; VITOVA, M. Simultaneous flue gas bioremediation and reduction of microalgal biomass production costs. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 82, n. 1, p. 179-185. 2009.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A. HAMILTON, J.K.; REBERTS, P. T.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

ERIKSEN, N. The technology of microalgal culturing. **Biotechnology Letters**, v. 30(9), p. 1525-1536, 2008.

GALARZA, J. I.; DELGADO, N.; HENRÍQUEZ, V. Cisgenesis and intragenesis in microalgae: promising advancements towards sustainable metabolites production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.100, p. 10225–10235, 2016.

GAUTAM, R.; VARMA, A. K.; VINU, R. Apparent kinetics of fast pyrolysis of four different microalgae and product analyses using pyrolysis-FTIR and pyrolysis-CG/MS. **Energy Fuels**, v. 31, p 112339-12349, 2017.

GE, S. CHAMPAGNE, P.; Nutrient removal, microalgal biomass growth, harvesting and lipid yield in response to centrate wastewater loadings. **Water Research**, v. 88, p. 604-612, 2016.

GO, A. W.; SUTANTO, S.; ONG, L. K.; TRAN-NGUYEN, P. L.; ISMADJI, S.; JU, Y. et al. Developments in in-situ (trans) esterification for biodiesel production: A critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 60, p. 284-305, 2016.

GOUVEIA, L. and OLIVEIRA, A. C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 269-274, 2009

GUILLARD, R. R. L.; LORENZEN, C. J. Yellow green algae with chlorophyllid-c. **Journal of Phycology**, New York, v.8, p.10-14, 1972.

GUO, F.; WANG, X.; YANG, X. Potential pyrolysis pathway assessment for microalgaebased aviationfuel based on energy conversion efficiency and life. **Conversion and Management**. v. 132, p. 272–280, 2017.

HO, S.; CHEN, C.; CHANG, J. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource Technology**, v. 11, p. 244-252, 2011.

HOEKMAN, S. K.; BROCH, A.; ROBBINS, C.; CENICEROS, E.; NATARAJAN, M. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 1, p. 143-169, 2012.

HONG, Y.; CHEN, W.; LUO, X.; PANG, C.; LESTER, E.; WU, T. Microwave-enhanced pyrolysis of macroalgae and microalgae for syngas production. **Bioresource Technology**, v. 237, p. 47-56, 2017.

HORNUNG, A.; APFELBACHER, A.; SAGI, S. Intermediate pyrolysis: A sustainable biomass-to-energy concept-Biothermal valorisation of biomass (BtVB) process. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v.70, p. 664-667, 2011.

HU, Y.; QI, L.; FENG, S.; BASSI, A.; XU, C.C. Comparative studies on liquefaction of low-lipid microalgae into bio-crude oil using varying reaction media. **Fuel**, v. 238, p. 240-247, 2019..

ISAHAK, W. N. R. W.; HISHAM, M. W. M.; YARMO. M.A.; YUN HIN, T. Y. A review on bio-oil production from biomass by using pyrolysis method. **Renew Sustain Energy Rev**, v. 16, n. 8, p. 5910-5923, 2012.

JOHN, D. K.; SILVA, M. B.; HOELTZ, M.; COSTA, A. B.; SCNEIDER, R. C. S. Produção de biodiesel por transesterificação in situ em solvente orgânico a partir da biomassa de *Desmodesmus sp.* **Revistas Jovens Pesquisadores**, v. 7, n. 2, p. 26-45, 2017.

KLASS, D. L. Biomass for renewable energy, fuels and chemicals. San Diego: Academic Press, 1998.

LEE, R.E. **Phycology**. Fourth edition. United States of America by Cambridge University Press, New York, 2008.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 2000. 839p

LI, Y.; WANG, B.; WU, N.; LAN, C.Q. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid production of *Neochlorisoleoabundans*. **Applied Microbiology and Bio-technology**. v.81, p.629–36, 2008.

LIANG, Y.N.; SARKANY, N.; CUI, Y. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. **Biotechnol Lett**, v.31, p.1043-1049, 2009.

LORA, E. E. S.; ANDRADE, R. V. Geração de energia e a gaseificação de biomassa. **Biomassa & Energia, Viçosa**, v. 1, n. 3, p. 311-320, 2004.

LOURENÇO, S.O. Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações. São Carlos, Rima Editora. 2006.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of biological chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MAHER, K. D. and BRESSLER, D. C. Pyrolysis of triglyceride materials for the production of renewable fuels and chemicals. **Bioresource technology**, v. 98, p. 2511-2368, 2007.

MALIUTINA, K., TAHMASEBI, A., e YU, J. (2018). The transformation of nitrogen during pressurized entrained-flow pyrolysis of *Chlorella vulgaris*. **Bioresource technology**, 262, 90-97.

MARKOU, G. Alteration of the biomass composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. **Bioresource Technology**, n. 116, p. 533-535, 2012.

MATHIMANI, T.; UMA, L.; PRABAHARAN, D. Homogeneous acid catalysed transesterification of marine microalga *Chlorella sp.* BDUG 91771 lipid—an efficient biodiesel yield and its characterization. **Renewable Energy**, v. 81, p. 523-533, 2015.

MING LV, J., HUA CHENG, L., HUA XU, X., ZHANG, L. e LIN CHEN, H. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. **Bioresource Technology** 101, 6797-6804, 2010.

MOHAN, D.; PITTMAN, J. C. U.; STEELE, P. H. Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: a critical review. **Energy Fuels**, v. 20, p. 848-889, 2006.

MOURA JÚNIOR, A.M.; BEZERRA NETO, E.; KOENING, M. L.; LEÇA, E. E. Composição química de microalgas em cultivo semi-intensivo: *Chaetoceros gracilis* Schutt, *Isochrysis*

galbana Parke e *Thalassiosira weissflogii* (Grunow). **Ciência Agronômica**, v. 37, n. 2, p.142-148, 2006.

NA, J.; PARK, Y.; KIM, D.I.; OH, Y.; JEON, S. G.; KOOK, J. W., Rapid pyrolysis behavior of leaginous microalgae, *Chlorella sp.* KR-1 with different triglyceride contents. **Renew Energy**, v. 81, p.779–784, 2015.

OHSE, S.; DERNER, R. B.; OZÓRIO, R. Á.; DA COSTA BRAGA, M. V.; CUNHA, P.; LAMARCA, C. P.; DOS SANTOS, M. E. Crescimento de microalgas em sistema autotrófico estacionário. **Biotemas**, v. 21, n. 2, p. 7-18, 2008

OLIVEIRA, S. S.; SILVA, C. F. Prospecção Tecnológica da produção de bio-óleo a partir de biomassa de *Chlorella vulgaris* pelo processo de pirólise. **Revista Geintec**, v. 8, p 4660-4669, 2018.

PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M.E.; DE-BASHAN, L.E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolismo and potential products. **Water Research**, v. 45, p. 11-36, 2011.

RADLEIN, D. The Past and Future Of Fast Pyrolysis For The Production Of Bio-Oil. **Symposium on thermal and catalytic sciences for biofuels and bio based products**. USA, September, v.52, p.21-23, 2010.

RAPOSO, M. F. DE J. et al. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. **Marine drugs**, v. 11, n. 1, p. 233–52, 2013.

REDAELLI, C.; MARCILIO, N. R.; RECH, R. Absorção de gás carbônico por microalgas em fotobiorreatores. In: **Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química**, 9., 2010, Porto Alegre. Anais [on line]. Porto Alegre: UFRGS/PPGEQ, 2010. p. 19-21.

RICHMOND, A. (Ed). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Oxford: Blackwell Science, 2004. 566p.

ROY, P.; GORETTY, D. Prospects for pyrolysis technologies in the bioenergy sector: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v.77, p.59-69, 2017.

SABER, M.; NAKHSHINIEV, B.; YOSHIKAWA, K. A review of production and upgrading of algal bio-oil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 918-930, 2016.

SAFI, C. et al. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265–278, 2014.

SANTOS, R. M.; BISPO, D. F.; GRANJA, H.S.; SUSSUCHI, E.M.; RAMOS, A.L.D. E FREITAS, L.S. Prolysis of the Caupi Bean Pod (*Vigna unguiculata*): Characterization of Biomass and Bio- Oil. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 00, 1-12, 2019.

SCHMIDELL, W.; LIMA, A.U.; AQUARONE, E.;BORZANI, W (2001). *Biotechnologia Industrial*, vol.2. São Paulo:Edgard Blucher LTDA.

SHAH, M., LING, Y., CHENG, J., & DAROCH, M. (2016). Astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus pluvialis*: From single cell to high value commercial products. *Frontiers in Plant Science*, 7.

SHENG, C.; AZEVEDO, J. L. T. Estimating the higher heating value of biomass fuels from basic analysis data. **Biomass and Bioenergy**, v.28, p.499-507, 2005.

SHUBA, E. S., e KIFLE, D. Microalgae to biofuels:‘Promising’alternative and renewable energy, review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 81, p. 743-755, 2018.

SIAUT, M.; CUINÉ, S.;CAGNON, C.; FESSLER, B.; NGUYEN, M.; CARRIER, P.; BEYLY, A.; BEISSON, F.; TRIANTAPHYLIDÈS, C.; LI-BEISSON, Y.; PELTIER, G. Oil accumulation in the model green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: Characterization, variability between common laboratory strains and relationship with starch reserves. **BMC Biotechnology**, v. 11, p. 1, 2011

SIMAS-RODRIGUES, C.; VILLELA, H. D. M.; MARTINS, A. P.; MARQUES, L. G.; COLEPICOLO, P.; TONON, A. P. Microalgae for economic applications: Advantages 66 and perspectives for bioethanol. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 14, p. 4097–4108, 2015.

SINGH, R., KRISHNA, B. B., KUMAR, J., e BHASKAR, T. Opportunities for utilization of non-conventional energy sources for biomass pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 398-407, 2016.

SOTOUDEHNIKARANI, F., ALAYAT, A.; MCDONALD, A. G. Characterization and comparison of pyrolysis products from fast pyrolysis of commercial *Chlorella vulgaris* and cultivated microalgae. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 139, p. 258-273, 2019.

VADIVELLOO, A., & MOHEIMANI, N. (2018). Effect of continuous and daytime mixing on *Nannochloropsis* growth in raceway ponds. **Algal Research**, 33, 190-196.

VARMA, A.K.; MONDAL, P. Pyrolysis of sugarcane bagasse in semi batch reactor: Effects of process parameters on product yields and characterization of products. **Industrial Crops and Products**, v.95, p. 704-717, 2017.

VERGARA-FERNÁNDEZ, A.; VARGAS, G.; ALARCÓN, N.; VELASCO, A. Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 4, p. 338-344, 2008.

WANG, M.; PARK, C. Investigation of anaerobic digestion of *Chlorella sp.* and *Micractinium sp.* grown in high-nitrogen wastewater and their co-digestion with waste activated sludge. **Biomass and Bioenergy**, v.80, p.30-37, 2015.

WANG, X.; SHENG, L. YANG, X. Pyrolysis characteristics and pathways of protein, lipid and carbohydrate isolated from microalgae *Nannochloropsis sp.* **Bioresource Technology**, v.229, p.119-125, 2017.

WANG, H. M. D.; CHEN, C. C.; HUYNH, P.; CHANG, J.S. Exploring the potential of using algae in cosmetics. **Bioresource Technology**, v.184, p. 355-362, 2015.

WOOLCOCK, P. J.; BROWN, R. C. A review of cleaning technologies for biomass-derived syngas. **Biomass and bioenergy**, v. 52, p. 54-84, 2013.

XU, H.; MIAO, X; L., WU, Q. Y. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. **Journal Biotechnology**, v.126, p.499-507, 2006.

YANG, C., LI, R., ZHANG, B., QIU, Q., WANG, B., YANG, H., e WANG, C. Pyrolysis of microalgae: A critical review. **Fuel processing technology**, v.186, p. 53-72, 2019.

YAMAN, S. Pyrolysis of biomass to produce fuels and chemical feedstocks. **Energy Conversion and Management**, v. 45, p. 651-671, 2004.

ZAINAN, N. H., SRIVATSA, S. C., LI, F.; BHATTACHARYA, S. (2018). Quality of bio-oil from catalytic pyrolysis of microalgae *Chlorella vulgaris*. **Fuel**, v. 223, p. 12-19.

ZAMALLOA, C.; VULSTEKE, E.; ALBRECHT, J.; VERSTRAETE, W. The techno-economic potential of renewable energy through the anaerobic digestion of microalgae. **Bioresource Technology**, v.102, p.1149-1158, 2011.

ZHANG, C.; TANG, X.; SHENG, L.; YANG, X. Enhancing the performance of Co-hydrothermal liquefaction for mixed algae strains by the Maillard reaction. **Green Chemistry**, v. 18, p. 2542-2553.

APÊNDICE A – Tabela de compostos identificados por CG/MS para os bio-óleos provenientes de BP, BC e BL.

TR	Composto	BP	BC	BL
7.086	Bicyclo[3.1.1]heptan-2-one	208688	324560	408739
7.313	Cyclopropane, octyl-	88943	69512	157309
7.575	1,6-Heptadiene	89394	24464	134875
7.714	Butanoic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester	0	82717	155270
7.847	3-Oxaspiro[5.5]undecane-1,5-dione, 4-methyl-3-phenyl-	112436	45104	98015
7.915	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 5,5-dimethyl-3-oxo-	124312	78713	92790
8.015	Pentanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	0	49625	122646
8.135	2-Cyclopenten-1-one, 2,3-dimethyl-	154170	266416	328399
8.218	Benzeneethanol, .beta.-ethenyl-	0	45016	47264
8.299	Cyclopropene, 1-butyl-2-ethyl-	0	22766	50657
8.429	Silane, trimethylphenoxy-	1453330	860808	724155
8.633	Benzene, (2-methylpropyl)-	105261	138311	134440
8.777	2-Cyclopenten-1-one, 2,3,4-trimethyl-	89760	116343	170945
8.842	Benzene, 1,3-diethyl-	0	20332	0
8.879	3-Pyridinecarbonitrile	42376	0	0
8.994	Benzeneacetaldehyde, .alpha.-methyl-	50678	97064	128007
9.191	2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-	111039	102645	133556
9.272	2-Methyl-3-(3-methylenebicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-yloxy)cyclohex-2-enone	0	18879	0
9.348	3,3'-Bithiophene	52059	0	0
9.459	1-Dodecene	456934	616424	1126367
9.540	2-Bromo-3-chloropropene-1	32505	69009	0
9.627	1-Nonyne	68414	110837	169494
9.727	Dodecane	373062	597271	711117
9.894	2-Undecene, (E)-	272171	267327	672768
10.050	Cyclohexane, (1-methylethylidene)-	31892	69141	78649
10.233	3-Dodecene, (Z)-	51383	83883	307613
10.359	1-Piperidineacetamide, N-(3-chlorophenyl)-	27539	0	0
10.527	Cyclohexaneethanol	0	0	46990
10.621	5-Undecyne	51833	71003	222937
10.800	1H-Imidazole, 1-methyl-	29052	0	34912
10.898	Silane, trimethyl(1-methylethoxy)-	27424	28948	108754
11.010	Silane, trimethyl(2-methylphenoxy)-	340683	315294	307036
11.122	Bicyclo[2.2.2]octane, 2-methyl-	180794	131481	124745
11.197	Cyclopentene, 1-hexyl-	0	0	121643
11.325	Silane, trimethyl(4-methylphenoxy)-	288235	275888	275728

11.427	L-Proline, 1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	0	54167	43776
11.463	Cyclopropane, 1,1'-methylenebis-	0	0	60532
11.581	Silane, trimethyl[(1-methyloctyl)oxy]-	31478	45193	194788
11.719	Silane, trimethyl(3-methylphenoxy)-	804797	408426	455652
11.855	1-Octanone, 1-(2-furanyl)-	0	40366	93093
11.973	Benzene, 1-butynyl-	62332	143381	137065
12.086	Benzene, (3-methylbutyl)-	76670	136010	305699
12.226	1H-Indene, 3-methyl-	30456	74894	81906
12.282	2-Propenoic acid, 2-methyl-, oxiranymethyl ester	0	22655	0
12.423	4-Heptanol	30505	22399	45685
12.518	Benzene, (1,2-dimethylpropyl)-	33422	46654	93923
12.629	2-(3-Chloropropyl)-1,3-dioxolane	49161	43169	0
13.002	1-Hexene, 2-methyl-	41820	0	55497
13.275	1-Undecene	395546	465214	897924
13.502	Cyclopentane, (2-methylpropyl)-	0	0	199809
13.543	Bicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylic acid (4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-amide	54329	93428	0
13.660	Dodecane	351322	469494	682275
13.766	2-Ethylphenol, trimethylsilyl ether	96493	53922	63516
13.843	Silane, (1,1-dimethylethoxy)trimethyl-	71436	31030	0
13.906	2-Dodecene, (Z)-	80237	121188	215646
14.417	Hexadecanoic acid, (2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl ester, cis-	233873	182602	232167
14.506	Butane, 1,4-diiodo-	0	88372	0
14.961	Cycloundecene(Z)	0	32735	200153
15.091	Silane, (2,4-dimethylphenoxy)trimethyl-	50295	39824	48539
15.187	2,3-Dimethylphenol, trimethylsilyl ether	254045	165266	152588
15.296	3-Pentanol, 2,4-dimethyl-	0	0	69393
15.438	1,3-Benzodioxole, 2-acetyl-4-methoxy-2-methyl-	29565	0	0
15.773	Pentane, 2-methoxy-2,4,4-trimethyl-	0	0	85090
15.879	(3,5-Dimethylphenoxy)(trimethyl)silane	245595	71815	90648
15.976	(2,5-dimethylphenoxy)trimethyl-Silane	0	45532	87887
16.083	Benzenepropanenitrile	316274	66513	54063
16.291	Pentanoic acid, 2-[(phenylmethoxy)imino]-, trimethylsilyl ester	30946	0	0
16.362	Benzoic acid trimethylsilyl ester	37895	0	76304
16.567	2-Heptyne-4-one	0	0	36409
16.644	Ethanone, 2-(acetyloxy)-1-phenyl-	67842	0	0
16.701	(3,4-dimethylphenoxy)trimethyl-Silane	0	36687	74587
16.733	2,4-Dodecadiene, (E,Z)-	0	0	46165
17.058	1,1'-Carbonyldiimidazole	0	0	41597
17.255	Acetic acid, (m-methoxyphenyl)-, trimethylsilyl ester	89133	0	0

17.301	Silane, (2,6-dimethylphenoxy)trimethyl-	0	70255	163266
17.737	2-Oxobicyclo(3.2.2)nona-3,6-dien-1-yl benzoate	0	0	51511
17.848	Trisulfide, dipropyl	61468	0	0
18.155	Silane, trimethyl[(4-methylcyclohexyl)oxy]-, trans-	0	42341	0
18.335	9H-Purine, 9-(trimethylsilyl)-	27984	0	0
18.517	Silanol, trimethyl-, phosphate (3:1)	127511	0	0
18.629	Trimethylsilyl ether of glycerol	629565	220004	695189
18.851	2-Hydroxypyridine	27981	0	0
19.056	3-Tetradecene, (Z)-	268752	260257	702540
19.191	Butan-1-one, 4-chloro-1-(1,2,3,4,4a,9b-hexahydro-2,8-dimethylpyrido[4,3-b]indol-5-yl)-	0	0	51527
19.274	1-Hexanol, 4-methyl-	86111	0	0
19.322	Cyclobutane, 1,2,3,4-tetramethyl-	0	0	44490
19.495	Indole	0	19288	0
19.589	Hexadecane	317965	429738	923180
19.845	Trimethylsilyl bromoacetate	59677	111146	0
19.916	3-Octene, 2,6-dimethyl-	0	0	76956
20.436	Benzeneacetic acid, trimethylsilyl ester	60571	33768	34915
21.689	Silane, (diphenylmethyl)trimethyl-	0	35048	0
22.718	Cyclobutanecarboxylic acid, 3-methylbut-2-enyl ester	0	0	61613
22.894	(Methoxymethyl)trimethylsilane	101693	71348	92727
23.167	1-Hexanol, 5-methyl-	65506	0	0
23.793	Propanoic acid, 1-methylethyl ester	57698	24026	54232
23.949	Toluene	0	0	46709
24.337	Benzene, (1-methyldodecyl)-	0	41713	37917
25.160	Biphenyl	1881488	2520876	1912081
25.459	4-Hexen-2-one, 3-methyl-	30322	0	41751
25.591	Silanamine, N,1,1,1-tetramethyl-N-[1-methyl-2-phenyl-2-[(trimethylsilyl)oxy]ethyl]-, [S-(R*,R*)]-	39055	0	0
25.728	1-Tridecene	306503	347308	1265489
25.922	Oxirane, methyl-, (S)-	0	0	44132
26.257	Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester	278143	346114	658260
26.584	Cyclopentane, 1,1,3-trimethyl-	0	0	60949
29.043	2,3-2H-Quinolin-2-one, 3,3,4,7-tetramethyl-	1141792	285668	263248
29.510	Cyclopentane, (1-methylethyl)-	0	0	79831
29.932	3,4-Nonadiene	0	0	82957
30.734	Acetic acid, 1,4-dimethylpent-4-enyl ester	0	0	60918
31.944	(S)-(+)-6-Methyl-1-octanol	0	0	62910
32.277	3-Hexadecene, (Z)-	363190	488622	2009845
32.505	Pentanal, 2-methyl-	0	0	73138

32.772	Hexadecane	1017263	0	1679231
32.801	Tetradecane	0	911311	0
33.078	Cyclopropane, octyl-	44455	52915	157971
33.774	Cyclopentane, 1,1,3-trimethyl-	0	0	75663
34.694	1H-Indole, 3-methyl-1-(trimethylsilyl)-	82555	0	0
36.017	Heptylcyclohexane	0	0	138869
37.212	Cyclohexene, 3-nonyl-	0	0	111319
37.338	7-Dodecenol	0	0	59023
37.478	Benzene, (1,3-dimethylbutyl)-	0	0	41300
37.569	3,4-Nonadiene	0	0	62462
37.688	1-Tridecyn-4-ol	0	0	41587
38.392	3-Octadecene, (E)-	163346	179548	449782
38.642	Pentanal, 2-methyl-	0	0	38702
38.787	Heptadecane	213030	273447	430717
39.032	Cyclopentane, 1,1,3-trimethyl-	43125	20046	86597
40.593	N-(2-Methylphenyl)-3-trimethylsilyloxybut-2-enamide	41147	0	0
41.077	Butanoic acid, 1,1-dimethylethyl ester	37830	0	0
41.366	Silane, trimethyl(1-methylethoxy)-	42507	0	0
41.956	5-Dodecenol	0	0	252286
42.092	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,3,3-trimethyl-	0	0	47327
42.218	(R)-(-)-(Z)-14-Methyl-8-hexadecen-1-ol	0	57687	499476
42.466	1-Tridecanol	29052	47882	266046
42.664	1-Butyne, 3-methyl-3-(1-methylethoxy)-	0	0	35280
42.810	9-Eicosene, (E)-	158486	257552	612104
42.918	1-Hexyl-2-nitrocyclohexane	29627	0	48740
43.100	Nonane, 3-methyl-5-propyl	0	569128	0
43.077	Eicosane	632603	29888	753684
43.251	1-Undecene, 9-methyl-	29328	0	70235
43.334	Ethanol, 2-(trimethylsilyl)-	0	0	39049
43.685	Methyl 2-hydroxydodecanoate	0	0	44393
44.062	(Z)-Bis-1,2-(trimethylsilyloxy)ethylene	27538	0	0
44.169	1-Nonanol, 4,8-dimethyl-	186843	72202	188020
44.275	Propane, 2-nitro-	29880	0	0
45.353	1-Trimethylsilyloxytetradecane	0	22473	78523
45.624	1-Hexyl-2-nitrocyclohexane	0	0	43159
45.821	(S)-(+)-6-Methyl-1-octanol	0	0	87168
45.908	Benzene, (1,3-dimethylbutyl)-	0	21582	64053
45.986	1-Decene, 8-methyl-	50315	0	0
46.124	2-Decene, 8-methyl-, (Z)-	57805	39536	103109
46.330	Heptadecane	126863	130444	197296
46.474	Azelaic acid, bis(trimethylsilyl) ester	37585	0	140553
47.324	1-Decene, 8-methyl-	134331	0	38298
47.459	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	361724	0	0

47.641	CCC	440181	61228	136643
48.154	1-Trimethylsilyloxy pentadecane	0	33601	0
48.572	1-Dodecyn-4-ol	0	0	48675
47.769	Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester	108994	0	0
47.950	Butanoic acid, 3-(methylthio)-	27435	0	0
48.596	Pentadecanal-	154470	0	0
48.854	1-Pentanol, 4-methyl-2-propyl-	45558	20608	105426
49.090	2-Nonadecanone	1416346	636871	1186166
49.173	Dodecanoic acid, 2-hexen-1-yl ester	69031	0	0
49.671	Undecanoic acid, methyl ester	71169	18329	40862
50.226	3,3-Dichloropropyne	26967	38525	0
50.314	1H-Indole, 1-(trimethylsilyl)-3-[2- [(trimethylsilyl)oxy]ethyl]-	41136	0	0
50.538	Silane, (hexadecyloxy)trimethyl-	57604	320581	147577
51.306	1-Decene, 8-methyl-	61330	0	57691
51.457	Tridecane, 1-iodo-	107858	59897	144454
52.743	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	1528593	155202	619867
53.118	1-Trimethylsilyloxyheptadecane	0	40175	0
53.709	1-Heptadecyne	0	0	89651
53.792	1-Pentanol, 4-methyl-2-propyl-	52186	0	69221
53.892	cis-3-Hexenyl iso-butyrate	57891	0	86958
54.056	1-Pentanol, 4-methyl-2-propyl-	38858	0	84318
54.157	Bicyclo[4.1.0]heptane, 3-methyl-	71421	0	0
54.233	Borane, diethyl(decyloxy)-	69147	28193	136613
54.331	Methyl cyclohexanepropionate	65747	0	0
54.452	2-Decanone	204677	92590	161847
55.588	Silane, trimethyl[[5-methyl-2-(1- methylethyl)cyclohexyl]oxy]-	39986	0	0
56.939	Phytol, trimethylsilyl ether	2204666	568415	868424
57.409	Methyl 2-hydroxydecanoate	29356	0	0
57.625	Acetyl valeryl	62526	22724	67747
58.445	11-cis-Octadecenoic acid, trimethylsilyl ester	109526	0	135239
59.493	Octadecanoic acid, trimethylsilyl ester	176359	0	94635
61.958	3,5-Dimethyl-4-octanone	60057	0	49419
66.548	Nonane, 1-iodo-	65492	0	54765
68.449	Dichloroacetic acid, heptadecyl ester	73062	36120	86147
68.533	Sulfurous acid, hexyl octyl ester	76629	30613	132522
69.514	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	206929	0	84037
69.847	2-(2',4',4',6',6',8',8'-Heptamethyltetrasiloxan- 2'-yloxy)-2,4,4,6,6,8,8,10,10- nonamethylcyclopentasiloxane	61024	0	73041
70.293	1,2-Dodecanediol	36308	0	90576
70.376	Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester	68899	0	97312
70.435	Hexadecanoic acid, 2,3- bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester	167959	0	138462

71.815	Propane, 1,1-dimethoxy-	27992	0	0
72.247	n-Tetracosanol-1	192783	0	406502
72.328	Nonane, 5-methyl-5-propyl-	76074	0	180849
72.563	Hexasiloxane, tetradecamethyl-	61827	0	0