



VALORIZAÇÃO SUSTENTÁVEL DE BIOMASSA DE MACROALGAS: UM EXEMPLO PRÁTICO DE BIORREFINARIA UTILIZANDO A *Ulva lactuca*

VALDIANA APARECIDA RODRIGUES MACHADO

novembro de 2021

VALORIZAÇÃO SUSTENTÁVEL DE BIOMASSA DE MACROALGAS: UM EXEMPLO PRÁTICO DE BIORREFINARIA UTILIZANDO A *Ulva lactuca*

Valdiana Aparecida Rodrigues Machado
1190056

2021

Instituto Superior de Engenharia do Porto
Departamento de Engenharia Mecânica

VALORIZAÇÃO SUSTENTÁVEL DE BIOMASSA DE MACROALGAS: UM EXEMPLO PRÁTICO DE BIORREFINARIA UTILIZANDO A *Ulva lactuca*

Valdiana Aparecida Rodrigues Machado
1190056

Dissertação apresentada ao Instituto Superior de Engenharia do Porto para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Energias Sustentáveis, realizada sob a orientação da Doutora Nídia de Sá Caetano.

2021

Instituto Superior de Engenharia do Porto
Departamento de Engenharia Mecânica

JÚRI

Presidente

Doutor Manuel Carlos Malheiro de Carvalho Felgueiras

Professor Adjunto do Instituto Superior de Engenharia do Porto

Orientador

Doutora Nídia de Sá Caetano

Professora Coordenadora do Instituto Superior de Engenharia do Porto

Coorientador

Título Nome

Cargo

Arguente

Título Nome

Cargo

AGRADECIMENTOS

A Deus que está comigo em todos os momentos da minha vida, me auxiliando nas dificuldades do dia a dia.

Agradeço imensamente à minha orientadora, Professora Doutora Nídia Sá Caetano que sempre me recebeu com um sorriso e boa disposição. Por sua paciência, amabilidade, tempo e apoio despendidos ao longo deste ano, no desenvolvimento e realização desta tese.

Um profundo agradecimento ao Professor Doutor Vitor Vasconcelos pela oportunidade de estagiar no CIIMAR, foram tantas experiências e aprendizados.

Um agradecimento a Eng^a Marília e Magda Marques, a Dona Lourdes pela disponibilidade e pelo auxílio prestado no Laboratório de Tecnologia Química.

A equipa do laboratório de Biotecnologia e Ecotoxicologia Azul do CIIMAR, agradeço por toda ajuda e ensinamentos que foram realmente importantes para o meu crescimento profissional. Saliento um agradecimento especial aos meus colegas Samuel, Janaina e Flávio pela paciência e pelo apoio durante os experimentos práticos e esclarecimentos de dúvidas.

Aos meus queridos amigos que sempre estiveram comigo, obrigada por tornarem esta jornada mais leve.

Agradeço aos meus amados pais, Valdeci e Silvia, pela educação que me deram, pelos valores transmitidos e por estarem sempre ao meu lado. Aos meus irmãos, Valber e Cintia, por depositarem em mim uma grande confiança. Um eterno agradecimento ao meu falecido avô por ter sempre me incentivado a acreditar nos meus sonhos.

A todos vocês, um enorme obrigado!

PALAVRAS CHAVE

Algas Marinhas; Biomassa; Bioprodutos; Biorrefinaria; Valorização Sustentável.

RESUMO

Para amenizar os desafios globais causados pelas mudanças climáticas, poluição ambiental e crescimento populacional, a valorização de matérias-primas provenientes de biomassa renovável através da biorrefinaria mostra-se como uma alternativa promissora e eficiente para enfrentar esses problemas. A abordagem do conceito de biorrefinaria permite o fracionamento sustentável da biomassa para produção de múltiplos produtos, criando maior valor acrescentado à cadeia produtiva e zero desperdício. Entre as fontes de biomassa disponíveis na natureza, as macroalgas (algas marinhas verdes, castanhas e vermelhas) são crescentemente consideradas um recurso alternativo de biomassa sustentável para a produção de alimentos, bioquímicos, biomateriais e biocombustíveis. De acordo com o tipo e espécie de alga marinha, é possível extrair elevadas quantidades de hidratos de carbono, proteínas, sais minerais, ácidos graxos e outras substâncias químicas. Neste estudo, a atenção é voltada para a macroalga verde *Ulva lactuca*, uma espécie encontrada mundialmente, que oferece alta produção de biomassa e contém compostos químicos com grande potencial para aplicações farmacêuticas, cosméticas, químicas e energéticas. Neste trabalho, um modelo de biorrefinaria foi realizado, para produção de seis diferentes produtos a partir da mesma biomassa de *Ulva lactuca*. Os procedimentos foram etapas sequenciadas de extrações, no qual em cada extração um determinado método foi aplicado e todo resíduo gerado foi aproveitado. Um total de 73% da biomassa inicial foi recuperado em produtos separados. A fração dos produtos recuperados da biomassa seca inicial foi de 22% de sais minerais, 9% de amido, 6% de lípidos, 4% de ulvanas, 11% de proteínas e 21% de celulose. A fração de lípidos recuperada apresentou 24% de carotenoides, esse produto demonstra grandes utilidades na indústria nutracêutica e alimentícia. A fração de proteínas indicou 28% de proteínas totais, a qual pode ser utilizada na alimentação humana ou animal. Através de uma análise referente às possíveis aplicações para os outros produtos recuperados, a biomassa de *Ulva lactuca* se mostrou uma fonte de matéria-prima promissora para ser utilizada em biorrefinaria.

KEYWORDS

Biomass; Bioproducts; Biorefinery; Seaweed; Sustainable Valorization.

ABSTRACT

To mitigate the global challenges caused by climate change, environmental pollution and population growth, the valorization of raw materials from renewable biomass through biorefinery is a promising and efficient alternative to address these problems. The biorefinery concept approach allows the sustainable fractionation of biomass for the production of multiple products, creating greater added value to the production chain and zero waste. Among the sources of biomass available in nature, macroalgae (green, brown and red seaweed) are increasingly considered an alternative resource of sustainable biomass for the production of food, biochemicals, biomaterials and biofuels. According to the type and species of seaweed, it is possible to extract high amounts of carbohydrates, proteins, mineral salts, fatty acids and other chemicals. In this study, attention is focused on the green macroalgae *Ulva lactuca*, a species found worldwide, which offers high biomass production and contains chemical compounds with great potential for pharmaceutical, cosmetic, chemical and energy applications. In this work, a biorefinery model was carried out to produce six different products from the same biomass of *Ulva lactuca*. The procedures were sequenced steps of extractions, in which in each extraction a certain method was applied and all residue generated was used. A total of 73% of the initial biomass was recovered in separate products. The fraction of the products recovered from the initial dry biomass was 22% of mineral salts, 9% of starch, 6% of lipids, 4% of ulvans, 11% of proteins and 21% of cellulose. The fraction of lipids recovered presented 24% carotenoids, this product demonstrates great uses in the nutraceutical and food industry. The protein fraction indicated 28% of total proteins, which can be used in human or animal feed. Through an analysis of the possible applications for the other products recovered, *Ulva lactuca* biomass proved to be a promising raw material source to be used in biorefinery.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Lista de Siglas

AIE	Agência Internacional de Energia
ACV	Análise do Ciclo de Vida
BCA	Ácido Bicinconínico
ABS	Albumina de Soro Bovino
Ca	Cálcio
CH ₄	Metano
CO	Monóxido de Carbono
CO ₂	Dióxido de Carbono
Cu ²⁺	Cobre (ião)
Cu ⁺	Íon Cuproso
DMSO	Dimetilsulfóxido
Fe	Ferro
H ₂	Hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
HCl	Ácido Clorídrico
IMTA	Aquicultura Multitrófica Integrada
K	Potássio
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
MWCO	Corte de peso molecular
NaOH	Hidróxido de Sódio
Na	Sódio
(NH ₄) ₂ C ₂ O ₄	Oxalato de Amônia
N	Nitrogênio
ODS	Objetivos do Desenvolvimento Sustentável
P	Fósforo
PER	Plano de Recuperação e Resiliência
PHAs	Poli-hidroxialcanoatos
PLA	Ácido Poliláctico
PUFA	Ácidos Graxos Polinsaturados
UE	União Europeia
TEA	Análises Técnico-Econômicas
Zn	Zinco

Lista de Unidades

°C	grau Celsius
g	gramas
Gt	gigatonelada
mg/mL	miligrama por mililitro
h	hora
kDa	quilodalton
kg	quilograma
M	concentração molar (mol/ L)
mg	miligrama
min	minuto
mL	mililitro
nm	nanómetro
PgC/ano	Pentagramas de carbono por ano
rpm	rotações por minuto
s	segundo
µL	microlitro

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 2-1: REPRESENTAÇÃO DO CONCEITO DE BIORREFINARIA	6
FIGURA 2-2: ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DE UMA BIORREFINARIA A PARTIR DA BIOMASSA.	6
FIGURA 2-3: DIFERENTES FONTES DE BIOMASSA UTILIZADA NA BIORREFINARIA.	7
FIGURA 2-4: OS TRÊS PRINCIPAIS GRUPOS DE ALGAS MARINHAS - (A) <i>RHODOPHYTA</i> , (B) <i>PHAEOPHYTA</i> , (C) <i>CHLOROPHYTA</i>	14
FIGURA 2-5: VALOR AGREGADO DOS COMPOSTOS PRESENTES NAS MACROALGAS (MARRONS, VERDES E VERMELHAS). FONTE: TORRES ET AL. (2019).	17
FIGURA 2-6: ESQUEMA GERAL DO CONCEITO DE BIORREFINARIA AQUÁTICA.	18
FIGURA 2-7: MACROALGA <i>ULVA LACTUCA</i> . FONTE PRÓPRIA.	18
FIGURA 2-8: (A) - <i>ULVA LACTUCA</i> ; (B) - MICROGRAFIA DE LUZ DE UMA SECÇÃO TRANSVERSAL DO TALO DE <i>ULVA LACTUCA</i> . O TALO APRESENTA DUAS CAMADAS DE CÉLULAS MAIS LONGAS DO QUE LARGAS. O CLOROPLASTO (C) E O CITOPLASMA SE CONCENTRAM PRÓXIMOS À SUPERFÍCIE DA CÉLULA. O VACÚOLO (V) OCUPA CERCA DE 60% DO VOLUME CELULAR. A PAREDE CELULAR (PC) É FACILMENTE OBSERVADA (PILATTI, 2016).	19
FIGURA 3-1: LOCAL DE COLETA DAS ALGAS - MATOSINHOS, PORTUGAL (41,1844 °N, 8,6963 °W).	23
FIGURA 3-2: (A) PARTE SÓLIDA E (B) LÍQUIDA DA BIOMASSA APÓS FILTRAGEM.	24
FIGURA 3-3: (A) PARTE LÍQUIDA PARA RECUPERAÇÃO DE SAL, (B) FRAÇÃO DE AMIDO DECANTADA	24
FIGURA 3-4: FILTRAÇÃO A VÁCUO DA BIOMASSA.	25
FIGURA 3-5: (A) ETANOL UTILIZADO NA ETAPA 1 E NA FILTRAGEM A VÁCUO; (B) EVAPORAÇÃO DO ETANOL NO ROTAVAPOR; (C) FRAÇÃO DE LÍPIDOS.	25
FIGURA 3-6: (A) MISTURA CENTRIFUGADA; (B) FASES SEPARADAS.	26
FIGURA 3-7: PROCESSO DE DIÁLISE.	26
FIGURA 3-8: (A) BIOMASSA APÓS TRATAMENTO ALCALINO; (B) PARTE LÍQUIDA APÓS CENTRIFUGAÇÃO.	27
FIGURA 3-9: PARTE SÓLIDA CENTRIFUGADA APÓS TRATAMENTO ALCALINO.	27
FIGURA 3-10: BIORREFINARIA APLICADA A BIOMASSA DE <i>ULVA LACTUCA</i> : PRODUÇÃO INTEGRADA DE DIFERENTES TIPOS DE PRODUTOS QUÍMICOS: F1-F6.	28
FIGURA 4-1: IMAGEM DOS PRODUTOS FINAIS (SECOS) EXTRAÍDOS - (A) FRAÇÃO DE AMIDO, (B) FRAÇÃO DE SAL, (C) FRAÇÃO DE LÍPIDOS, (D) FRAÇÃO DE ULVANAS, (E) FRAÇÃO DE PROTEÍNAS, (F) FRAÇÃO DE CELULOSE.	34
FIGURA 4-2: COMPOSIÇÃO FINAL DA BIOMASSA RECUPERADA.	34

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 2-1: COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DOS GRUPOS DE MACROALGAS TENDO COMO BASE A MATÉRIA SECA (%). FONTE: ADAPTADO DE HASSAN ET AL. (2019) E ZAKY ET AL. (2018).	14
TABELA 2-2: ESTUDOS DE BIORREFINARIA DE MACROALGAS UTILIZANDO <i>ULVA LATUCA</i> . FONTE: M. S. PRABHU ET AL. (2020).....	21
TABELA 3-1: PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA CURVA DE CALIBRAÇÃO COM BETACAROTENO.	29
TABELA 3-2: PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA CURVA DE CALIBRAÇÃO COM ABS.....	30
TABELA 4-1: CAROTENOIDES TOTAIS.	36
TABELA 4-2: PROTEÍNAS TOTAIS.	37
TABELA 4-3: COMPARAÇÃO DOS PRODUTOS RECUPERADOS DA BIORREFINARIA DE BIOMASSA DE <i>ULVA LACTUCA</i> E POTENCIAIS APLICAÇÕES.	39

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Enquadramento geral	21
1.2	Objetivos da Dissertação.....	23
1.2.1.	Objetivos específicos	23
1.3	Conteúdo da Dissertação	23
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1	Biorrefinaria	5
2.2	Matéria-prima	7
2.3	Processos.....	9
2.4	Produtos	10
2.4.1.	Produtos energéticos	10
2.4.2.	Produtos não energéticos	11
2.5.	Macroalgas como matéria-prima.....	13
2.6.	<i>Ulva lactuca</i>	18
2.6.1.	Biorrefinaria de <i>Ulva lactuca</i>	20
3	DESCRIÇÃO TÉCNICA	23
3.1	Coleta da biomassa	23
3.1.1.	Preparação da biomassa	23
3.2.	Procedimento experimental	23
3.2.1.	Extração de amido e sal – Etapa 1.....	24
3.2.2.	Extração de lípidos – Etapa 2.....	25
3.2.3.	Extração de ulvanas – Etapa 3.....	25
3.2.4.	Extração de proteínas – Etapa 4.....	26
3.2.5.	Extração de celulose – Etapa 5.....	27
3.3.	Métodos de quantificação de carotenoides e proteínas totais	29

3.3.1.	Determinação de carotenoides totais por espectrofotometria	29
3.3.2.	Determinação de proteínas totais por espectrofotometria	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1.	Caracterização da biomassa	34
4.2.	Produtos extraídos	35
4.2.1.	Fração de sal	35
4.2.2.	Fração de amido	35
4.2.3.	Fração de lípidos	36
4.2.4.	Fração de ulvanas	37
4.2.5.	Fração de proteínas	37
4.2.6.	Fração de celulose	38
5	CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	39
5.1.	Conclusões	39
5.2.	Sugestões de trabalhos futuros	40
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
7.	ANEXOS	77

INTRODUÇÃO

- 1.1 Enquadramento Geral
- 1.2 Objetivos da Dissertação
- 1.3 Conteúdo da Dissertação

1 INTRODUÇÃO

A sobrepopulação e a crescente industrialização têm estimulado uma alta demanda de recursos naturais que o planeta não consegue repor a escala humana. O consumismo seguido de um uso insustentável desses recursos está gerando consequências irreversíveis ao meio ambiente.

Até 2030, o planeta vai necessitar de produzir 50% mais alimentos e energia, como também consumirá 30% mais água do que se consome atualmente (Bell et al., 2018). Aproveitar integralmente as matérias-primas, minimizar os desperdícios, bem como aprofundar os conceitos da bioeconomia, são necessidades reais às quais a sociedade em geral terá de se adaptar para fazer face a essa demanda de recursos terrestres, uma vez que são finitos (Gírio, 2019).

No entanto, a bioeconomia se projeta como um novo elo entre os processos produtivos e o meio ambiente, concentrando-se na biotecnologia e nos biorecursos como alternativa a dependência de recursos fósseis (Sanz-Hernández et al., 2019).

A fim de alcançar o quanto antes o máximo dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) definidos pela Organização das Nações Unidas (ONU), países e organizações em todo o mundo estão atualmente perseguindo políticas e estratégias explícitas, para desenvolver e expandir suas bioeconomias. O governo de Portugal, por exemplo, destacou um fundo ambiental de 129 milhões no *Plano de Recuperação e Resiliência* (PER) para investimento em bioeconomia sustentável para o ano de 2021, o qual apoia a reestruturação e a adaptação da indústria por meio da criação de novas cadeias de valor e de processos industriais mais ecológicos e circulares (Planeamento, 2021)

Nesse contexto, surgem as biorrefinarias, um complexo integrado de várias tecnologias e etapas produtivas que buscam produzir uma ampla gama de produtos comercializáveis

a partir do fracionamento da biomassa, por meio de processos industriais sustentáveis, alinhando-se com uma série de ODS (Budzianowski, 2017; Sanz-Hernández et al., 2019).

Devido a limitação dos recursos terrestres, e a fim de atender à demanda crescente por biocombustíveis e bioquímicos, há uma necessidade de encontrar fontes de biomassa adequadas, para diversificar a matéria-prima e o portfólio de produtos das biorrefinarias (Subhadra & Grinson-George, 2011), em particular aquelas que não dependem do uso de grandes quantidades de terras agrícolas e não compitam com a produção de alimentos (Bruhn et al., 2011; John et al., 2011; Kraan, 2013; Subhadra & Grinson-George, 2011).

Essa necessidade despertou o interesse pelo uso de biomassa aquática, especialmente as algas marinhas (macroalgas), as quais constituem os habitats marinhos bentônicos com vegetação mais extensa e produtiva, um recurso subutilizado, mas que contém uma fonte valiosa de diversos compostos bioativos. As algas marinhas são conhecidas não apenas por desempenhar um papel ecológico fundamental nos ecossistemas costeiros, mas, por meio de abordagens de cultivo sustentáveis, também podem ter o potencial de enfrentar os desafios globais. Isso inclui questões relacionadas ao consumo de combustíveis e alimentos, agricultura, saúde humana e gestão costeira; todos os quais, se implementados de forma eficiente, contribuem para uma bioeconomia sustentável (Barbier et al., 2020; Kostas et al., 2021a).

1.1 Enquadramento geral

Ao observar a realidade mundial, dois aspectos centrais devem ser considerados: a importância do desenvolvimento de novas tecnologias de produção com base na biomassa de algas e o desenvolvimento de biorrefinarias. Esses desenvolvimentos representam a chave para uma produção integrada de alimentos, substâncias químicas, diferentes materiais e combustíveis para o futuro.

O interesse pelas algas cria novos mercados em diferentes áreas, novos empregos e participa do desenvolvimento socioeconômico local em áreas costeiras e comunidades

no mundo, como por exemplo, países como a França, Irlanda e Espanha que têm sido apontados com as maiores unidades de produção de macroalgas da EU, enfatizando a contribuição das algas para a bioeconomia (Araújo et al., 2021; Doumeizel et al., 2020). Ao focar nos recursos de algas marinhas, os países proporcionam uma oportunidade de acesso a um mercado emergente, impulsionado pela diversificação da demanda por produtos de algas marinhas de usos tradicionais a aplicações de bioenergia, cosméticos e biomedicina (FAO, 2018).

Especialistas acreditam que as biorrefinarias virão a constituir uma indústria chave do século XXI, responsável até mesmo por uma nova revolução industrial, em virtude das tecnologias empregadas serem baseadas na utilização total da biomassa e na integração de processos modernos e tradicionais ((Kamm et al., 2016). O foco principal é voltado para os chamados precursores da biomassa: hidratos de carbono, lignina, lípidos, e proteínas, e à combinação entre conversões biotecnológicas e químicas das substâncias para a obtenção de produtos intermediários e finais (Borges, 2010; Bourgougnon et al., 2021).

As biorrefinarias de macroalgas, uma vez totalmente otimizados, têm o potencial de fortalecer economicamente uma série de setores industriais, ao mesmo tempo que ajudam a bioeconomia a mitigar os efeitos das mudanças climáticas, redução da geração de resíduos e apoio aos ecossistemas marinhos (Araújo et al., 2021).

Em busca de demonstrar a importância da biorrefinaria no aproveitamento integral da biomassa de algas, este trabalho apresenta um exemplo prático de valorização sustentável da biomassa de *Ulva lactuca*, uma alga verde encontrada na costa Portuguesa, demonstrando ser uma possível alternativa para produção em cascata de produtos intermediários ou finais.

1.2 Objetivos da Dissertação

Estudar a macroalga *Ulva lactuca* encontrada na praia de Matosinhos, Porto – Portugal (41,1844 °N, 8,6963 °W), a fim de avaliar seu potencial como matéria-prima em um modelo de biorrefinaria.

1.2.1. Objetivos específicos

- Realizar a extração dos seguintes compostos presentes na biomassa:
 - ✓ amido;
 - ✓ lípidos;
 - ✓ ulvanas;
 - ✓ proteínas;
 - ✓ celulose.
- Quantificar e caracterizar as frações recuperadas em compostos de valor agregado.

1.3 Conteúdo da Dissertação

Este trabalho encontra-se organizado em 5 capítulos. No capítulo 1 apresenta-se a problemática associada ao tema desenvolvido, a importância da biorrefinaria para a valorização sustentável da biomassa de algas, além de mencionar os objetivos da presente dissertação.

No Capítulo 2 é apresentada a revisão bibliográfica acerca do tema. Os principais tópicos a serem abordados referem-se ao conceito geral de uma biorrefinaria, referente as fontes de matéria-prima e processos utilizados, e aos produtos gerados. A seguir, é apresentado o potencial das macroalgas como matéria-prima, faz-se, uma breve explicação sobre os seus principais grupos e compostos produzidos, enfatizando a alga verde *Ulva lactuca*, referindo sua importância como matéria-prima e seus potenciais produtos gerados.

No Capítulo 3 está descrito o procedimento experimental realizado, salientando os materiais e metodologias utilizados para o aproveitamento integral da biomassa num sistema de biorrefinaria integrada.

No capítulo 4, são apresentados os resultados obtidos no decorrer do procedimento juntamente com uma breve discussão.

No capítulo 5, são apresentadas as principais conclusões retiradas no decorrer deste trabalho, assim como sugestões, atendendo às condicionantes e limitações encontradas, para trabalhos futuros.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- 2.1 Biorrefinaria
- 2.2 Matéria-prima
- 2.3 Processos
- 2.4 Produtos gerados
- 2.5 Macroalgas como matéria-prima
- 2.6 *Ulva lactuca*

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biorrefinaria

Biorrefinaria compreende-se como sendo o processo sustentável de transformação de biomassa em um espectro de produtos comerciáveis. Uma biorrefinaria é uma instalação (ou rede de instalações) que envolve um conjunto de rotas tecnológicas capazes de fracionar, extrair, separar e converter a biomassa em produtos químicos, biomateriais, alimentos, biocombustíveis, ração e fertilizantes. O conceito de biorrefinaria é análogo à atual refinaria de petróleo, entretanto utiliza um recurso renovável (Cherubini, 2010; Conteratto et al., 2021; Nali et al., 2016).

O termo biorrefinaria, foi estabelecido no início da década de 1990, quando processos integrados e tecnologia de refinaria de biomassa tornaram-se objetos de pesquisa e desenvolvimento. No início, os principais métodos empregados nas biorrefinarias envolviam a fermentação de etanol para biocombustíveis, fermentação de ácido láctico (PLA), de propanodiol (PDO) e de lisina, especialmente para a produção de polímeros (Eggersdorfer et al., 1992; Kamm et al., 2016; Yoshida & Nagasawa, 2003).

Alguns pesquisadores consideram a biorrefinaria integrada um método prático de melhorar o desempenho econômico da biomassa, pois a operação em cascata permite obter uma variedade de compostos químicos, aumentando a lucratividade e diminuindo o desperdício (ao contrário do uso apenas para um determinado fim específico) (Tursi, 2019; Ubando et al., 2020).

As biorrefinarias tem como objetivos: (i) Maximizar o valor dos produtos obtidos a partir da biomassa, (ii) Produzir produtos competitivos e comercializáveis, (iii) Mitigar os danos ambientais causados pelo uso excessivo de combustíveis fósseis, (iv) Implementar processos não baseados no petróleo, e (v) Impulsionar uma economia de base biológica (Solarte-Toro & Cardona Alzate, 2021).

O funcionamento de uma biorrefinaria baseia-se no princípio da circularidade, considerando a redução do desperdício (ou zero desperdício), a reutilização e reciclabilidade do produto e o fornecimento de energia a partir de uma economia de base biológica renovável (Gírio, 2019; Sanz-Hernández et al., 2019; Torres et al., 2019; Ubando et al., 2020).

Ao produzir diversos produtos, uma biorrefinaria busca aproveitar os componentes da biomassa de acordo com seu valor agregado para aumentar a lucratividade da cadeia produtiva (Figura 2-1).

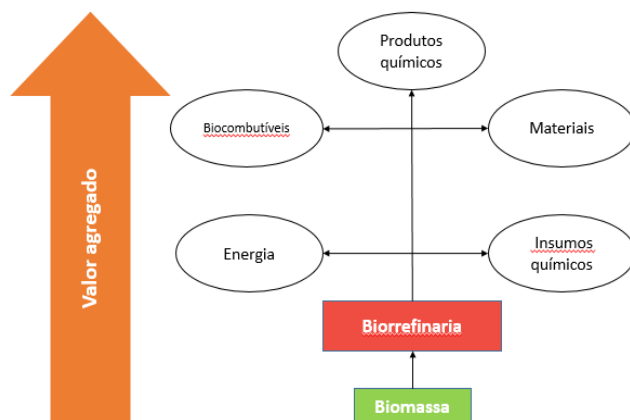


Figura 2-1: Representação do conceito de biorrefinaria

Fonte: (Alvim et al., 2014)

Em uma escala de valorização econômica, primeiro são produzidos os produtos químicos, pois são os que possuem maior potencial em adicionar valor a cadeia produtiva, em função da sua importância como matérias-primas e produtos para indústria transformadora (como as farmacêuticas, cosméticas, petroquímicas, etc.). Em segundo patamar de valorização, estão a produção de biocombustíveis e materiais, seguidos por energia e produtos químicos (como fertilizantes e corretivos orgânicos) (Lucarini et al., 2018; Vaz Jr., 2012).

Uma enorme gama de produtos pode ser produzida em uma biorrefinaria, como apresentado na Figura 2-2. Decidir quais produtos realmente devem ser produzidos depende da otimização do processo para torná-lo competitivo aos produtos existentes no mercado, os quais já se mostram economicamente viáveis através da produção pelas rotas tradicionais.

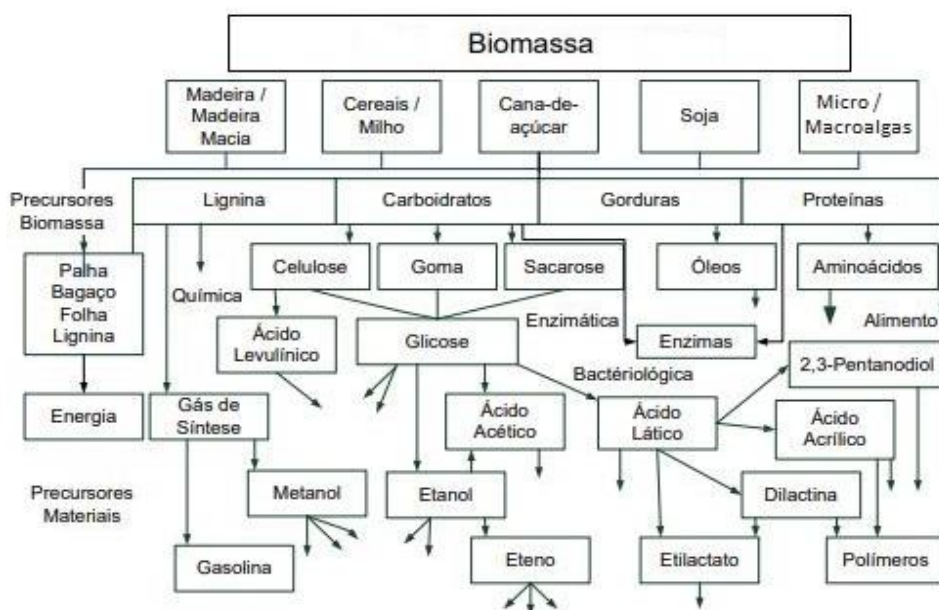


Figura 2-2: Esquema de funcionamento de uma biorrefinaria a partir da biomassa.

Fonte: Adaptado de (Borges, 2010)

2.2 Matéria-prima

A biomassa é um material orgânico não fóssil de origem biológica, inclui culturas de energia herbáceas e lenhosas, culturas agrícolas e de alimentos, resíduos de culturas agrícolas, resíduos florestais, plantas aquáticas e outros resíduos, incluindo alguns resíduos urbanos. A biomassa é um recurso renovável, heterogêneo e de composição química muito complexa, consiste em: carboidratos, lignina, proteínas, lípidos, e uma variedade de substâncias como vitaminas e minerais das mais variadas estruturas químicas. A composição da biomassa depende dos fatores como o processo de cultivo, as condições de cultivo (localização geográfica, clima, estações, água, pH e nutrientes), dosagem de fertilizantes e pesticidas, técnicas de colheita e recolha, transporte e condições de armazenamento (Alzate, 2018; Kamm et al., 2016; Vassilev & Vassileva, 2016) .

Como matéria-prima em uma biorrefinaria, a biomassa pode ser classificada em relação a sua origem, sendo divididas em quatro gerações: a primeira geração (1G) proveniente das culturas alimentares e florestais, a segunda geração (2G) de resíduos agrícolas e florestais, a terceira geração (3G) das algas e a quarta geração (4G) considera os resíduos urbanos residuais e industriais (Figura 2-3Figura 2-3) (Albarelli et al., 2018; Alzate, 2018; Dong et al., 2019; Flemsæter, 2020; Moncada et al., 2014)

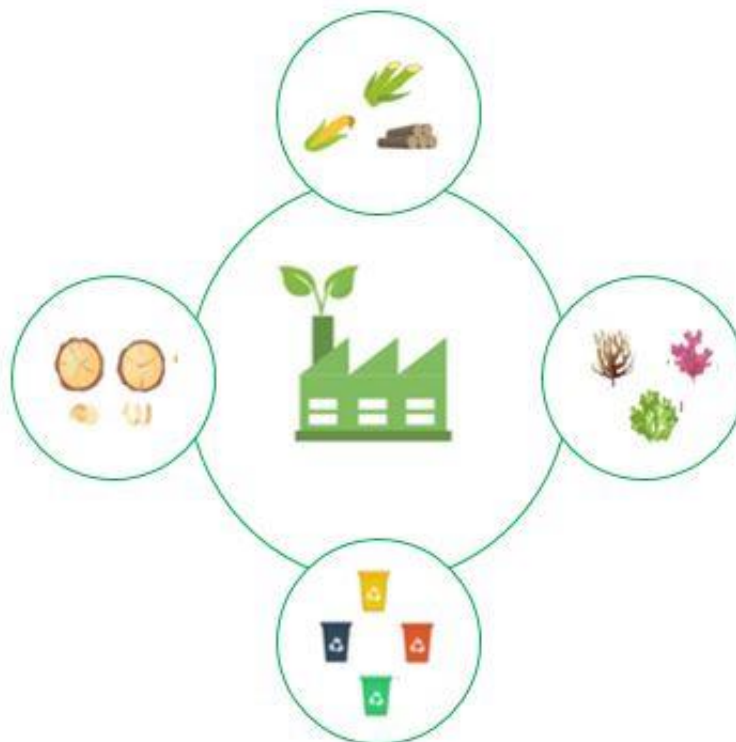


Figura 2-3: Diferentes fontes de biomassa utilizada na biorrefinaria.

Fonte: Fonte própria.

A primeira geração (1G) é voltada para o uso da biomassa vegetal, provinda principalmente de lavouras agrícolas e florestal, como por exemplo, óleos vegetais,

cereais, cana-de-açúcar, milho e madeira. A primeira geração tem fomentado biorrefinarias voltadas para a produção de biocombustíveis e energia, no entanto, tem recebido críticas referente a competição direta com a produção de alimentos por terra arável e água doce (Conteratto et al., 2021; Ubando et al., 2020)

A segunda geração (2G) utiliza resíduos provenientes do setor florestal e da agricultura, como bagaço de cana, fibras, serragem, casca e palhas, restos de frutas e derivados da produção de alimentos. A geração anual global de resíduos de práticas agrícolas ou florestais é da ordem de 140 Gt, isso apresenta significativos problemas de gestão, com efeitos negativos na economia, no ambiente e na saúde humana (Marzo et al., 2019; Tripathi et al., 2019). O fracionamento desse resíduos em um contexto de biorrefinaria permite aproveitar todos os constituintes químicos para a produção de potenciais produtos, como: bioquímicos, biomateriais (painéis de madeira, polpa, papel), fertilizantes, rações e biocombustíveis (Júnior, 2020). Ao serem reaproveitados, esses recursos acrescentam valor a cadeia produtiva, desenvolvem a economia local, aumentam a lucratividade dos setores de produção envolvidos e minimizam os problemas ambientais relacionado ao seu descarte incorreto (Bruins & Sanders, 2012; Costa Filho et al., 2017)

A terceira geração (3G) corresponde a biomassa de ambientes aquáticos, predominante de habitat marinho, como as algas (micro e macro) e cianobactérias. Os avanços na emergente “Economia Azul” mostram o potencial da bioprospecção de uma gama de recursos naturais marinhos para refinar bioprodutos que já estão sendo usados nos setores de saúde, agricultura, alimentar e energético (Flemsæter, 2020; Sanz-Hernández et al., 2019; Vieira et al., 2020). Essa geração exhibe uma imensa diversidade biológica e flexibilidade metabólica em comparação com as plantas terrestres, oferecem a possibilidade de aumentarem significativamente a disponibilidade de biomassa e permitem a produção de uma série de produtos valiosos através do processamento eficiente em uma biorrefinaria (Kostas et al., 2021a; Laurens et al., 2017)

As abordagens contemporâneas abrangem também a quarta geração (4G) de biorrefinarias, as quais aproveitam os insumos de resíduos urbanos (sólidos e líquidos). A composição desses resíduos é altamente dependente da origem, coleta e atividades socioeconômicas de uma determinada região. A parte sólida é composta por: restos de comidas, papel e cartão, plásticos, metais, vidro, entre outros; e a líquida composta por efluentes líquidos domésticos ou industriais (Maina et al., 2017). As práticas comuns de gestão dos resíduos da quarta geração incluem aterro sanitário, digestão anaeróbica, compostagem e estações de tratamento de resíduos líquidos. que acabam por poluir a natureza, se não tiverem um sistema de funcionamento sustentável. As biorrefinarias 4G surgem como uma possível alternativa para a mitigação dos problemas ambientais gerados pelo grande volume de resíduos produzidos atualmente (Conteratto et al., 2021; Dahiya et al., 2018). Projeto e integração de processos eficazes para produção de vários bioprodutos, como produtos químicos, metais, energia e fertilizantes demonstraram apresentar viabilidade em termos de aspetos técnico-econômicos (Sadhukhan et al., 2018).

2.3 Processos

A biorrefinaria opera pela sucessão de diferentes etapas de conversão (Figura 2-2), as quais variam conforme a origem e composição química da biomassa, e são divididas em quatro grupos principais (Adeleke et al., 2021; Alvim et al., 2014; Cherubini et al., 2009; Kamm et al., 2016; Murthy, 2019).

1. Mecânico/físico (prensagem, pré-tratamento, ruptura celular, destilação)

Os processos mecânicos não alteram a composição da biomassa; tem por finalidade reduzir as dimensões ou separar os componentes da matéria-prima. A redução da biomassa é um tratamento mecânico que se refere aos processos de corte ou comutação que alteram significativamente o tamanho, a forma e a densidade aparente das partículas da biomassa (Cherubini, 2010). Os métodos de pré-tratamento lignocelulósico (por exemplo, que tem a função de solubilizar açúcares da hemicelulose e aumentar a acessibilidade das enzimas hidrolíticas à celulose) se enquadram nesta categoria (Santiago & Rodrigues, 2017)

2. Bioquímica (digestão anaeróbia, fermentação aeróbia e anaeróbia, conversão enzimática)

Os processos bioquímicos mais comuns são a fermentação e a digestão anaeróbia. A fermentação utiliza microorganismos ou enzimas para converter um substrato fermentável em produtos recuperáveis (geralmente álcoois ou ácidos orgânicos). O etanol é atualmente o produto de fermentação mais requisitado, mas com o desenvolvimento da biotecnologia, a produção de muitos outros compostos químicos está sendo realizada (Hamelinck et al., 2005).

3. Químico (hidrólise, transesterificação, hidrogenação, oxidação)

Os processos químicos frequentemente utilizados são a hidrólise e a transesterificação, que através de reações químicas causam uma mudança na fórmula molecular. A hidrólise usa ácidos, álcalis ou enzimas para despolimerizar polissacarídeos e proteínas em seus açúcares componentes (por exemplo, glicose de celulose) ou produtos químicos derivados (por exemplo, ácido levulínico de glicose). A transesterificação é o método mais comum de produção de biodiesel atualmente e é um processo químico pelo qual os óleos vegetais podem ser convertidos em ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos, também chamados de biodiesel. Esse processo envolve a coprodução da glicerina, um composto químico com diversos usos comerciais (Cherubini, 2010; Cherubini et al., 2009; Demirbaş, 2003).

4. Termoquímica (pirólise, gaseificação, liquefação hidrotérmica, combustão)

Os principais processos para a conversão de biomassa em energia e produtos químicos são gaseificação e pirólise. A gaseificação consiste em manter a biomassa em alta temperatura (> 700 °C) com baixos níveis de oxigênio para produzir gás de síntese, uma

mistura de H₂, CO, CO₂ e CH₄. A pirólise faz uso de temperaturas intermediárias (300-600 °C) na ausência de oxigênio para converter a matéria-prima em óleo pirolítico líquido (ou bio-óleo), carvão sólido e gases leves semelhantes ao gás de síntese (Bridgwater & Peacocke, 2000; Cherubini et al., 2009).

2.4 Produtos

De acordo com a Agência Internacional de Energia (AIE), os produtos obtidos em uma biorrefinaria podem ser classificados em produtos energéticos e não-energéticos (Alzate, 2018; Cherubini, 2010; Cherubini et al., 2009).

1- Produtos energéticos

- biocombustíveis gasosos (biogás, hidrogênio, biometano),
- biocombustíveis sólidos (pellets, lignina, carvão),
- biocombustíveis líquidos (biodiesel, bioetanol).

2- Produtos não energéticos

- Produtos químicos (químicos finos, blocos de construção),
- ácidos orgânicos,
- polímeros e resinas,
- biomateriais,
- alimentos para humanos e animais,
- fertilizantes.

2.4.1. Produtos energéticos

Os principais combustíveis considerados como produtos em uma biorrefinaria são: bioetanol, biodiesel, biobutanol, biogás, biohidrogênio e biocombustível de aviação *bio jet fuel*. Esses combustíveis podem ser produzidos de qualquer geração de biomassa (Alzate, 2018; Kumar et al., 2013; Vaz, 2014).

Mundialmente, o bioetanol e o biodiesel são os biocombustíveis mais comuns e com os níveis de produção mais elevados. O biodiesel é obtido através do processo de transesterificação de óleos, obtidos a partir de culturas oleaginosas, tais como colza, soja, óleos de girassol e óleo de palma, com álcoois de baixo peso molecular, como metanol ou etanol (Gutiérrez et al., 2009), sendo usado como substituto total ou parcial do diesel de origem fóssil.

O bioetanol é produzido através da fermentação de açúcares presentes na biomassa utilizando leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* ou *Zymomonas mobilis*) com diferentes técnicas, tais como, hidrólise e fermentação separadas (Quintero et al., 2013), sacarificação e fermentação simultâneas (Gladis et al., 2015; Gonçalves et al., 2014), e sacarificação simultânea e co-fermentação (Yasuda et al., 2014). A produção de bioetanol é considerada como um processo versátil porque o bioetanol também pode

ser produzido através da fermentação de gás de síntese e glicerol usando *Alkalibaculum bacchi* (Liu et al., 2014) e *Escherichia coli* (Chaudhary et al., 2011).

O biogás é um gás rico em energia, pode ser produzido através da digestão anaeróbia, dependendo do seu valor calórico, pode ser utilizado para diferentes fins, tais como síntese química, geração de calor ou eletricidade (Rezaiyan & Cheremisinoff, 2005).

O biohidrogénio foi indicado como o mais promissor combustível para o futuro devido a sua combustão não libertar elementos poluentes para a atmosfera, possui elevada densidade energética e eficiência na conversão em eletricidade. O biohidrogénio pode ser produzido através da fermentação no escuro, pode utilizar os açúcares e *Clostridium sp.* e *Enterobacter aerogenes* como microrganismos. No entanto, a produção e armazenamento de biohidrogénio tem muitos desafios técnicos e económicos no futuro (Ghimire, 2016; Tanisho & Ishiwata, 1994; Tapia-Venegas et al., 2015).

Os biocombustíveis de aviação são objeto de intensa investigação nos últimos anos, por exemplo, uma possível via de produção de biocombustíveis de aviação é a conversão através da hidrólise ácida da hemicelulose em xilose e glicose, e a seguir a xilose é desidratada para produzir furfural. O furfural pode ser uma nova plataforma para produção catalítica de compostos à base de furano, que são utilizados em uma ampla gama de produtos químicos importantes. Além do mais, o furfural pode servir como precursor na produção de substitutos ou aditivos de combustível de aviação (Alzate, 2018; Hua et al., 2016).

2.4.2. Produtos não energéticos

2.4.2.1. Biomateriais

Nos últimos anos, os materiais de base biológica provenientes de proteínas, amido, celulose, e látex entre outros, estão a receber cada vez mais atenção. Os materiais de base biológica incluindo biopolímeros, lubrificantes, solventes e tensioativos, são considerados uma opção interessante devido ao seu potencial de redução de emissões a curto e longo prazo. Os biopolímeros podem ser classificados como biomateriais tais como celulose, amido e poli-hidroxialcanoatos (PHAs), que são o primeiro tipo de biopolímeros naturais. O segundo tipo de biopolímeros é o ácido poliláctico (PLA) que pode ser sintetizado a partir de ácido láctico biologicamente obtido, ou mesmo de polietileno que é produzido a partir de etileno do bioetanol (Alzate, 2018; Rehm, 2010)

Os biopolímeros naturais são provenientes de quatro grandes áreas, tais como: fonte animal fornecem colagénio e gelatina; as fontes marinhas fornecem quitina (que é transformada em quitosana); as fontes microbianas são capazes de produzir PLA e PHAs; e as fontes agrícolas são a fonte de hidrocolóides, lípidos e biopolímeros gordos. Atualmente, a gama existente de biopolímeros tem grande potencial interessante para substituir os polímeros sintéticos (Blok et al., 2002; J. G. C. Gomez, B. S. Méndez, P. I. Nickel, M. J. Pettinari, M. A. P. And & Silva, 2012). Numa biorrefinaria, podem ser produzidos diferentes tipos de biopolímeros, por exemplo, polímeros de amido e celulose, poliésteres (PLA e PHAs), poliuretanos e poliamidas.

As matérias-primas para o plástico de amido são milho, trigo, batata, mandioca e arroz, sendo a maioria utilizados para aplicações em embalagem, incluindo películas solúveis para embalagens industriais, filmes para sacos, sacolas e preenchimentos soltos (Alzate, 2018; Vasco, 2014).

O ácido láctico pode ser fermentado através de fontes ricas em glicose (por exemplo, açúcares, melaço, soro de leite, bem como arroz, trigo e amidos de batata), após fermentado, o ácido livre obtido é purificado para atingir a qualidade necessária para a síntese química. O ácido láctico é a molécula precursora do PLA, o qual, é usado para uma vasta gama de áreas de aplicação, tais como, embalagens (copos, garrafas, películas e bandejas), têxteis (camisas, móveis), não-tecidos (fraldas), entre outras (Arias Zabala et al., 2009; Venus et al., 2018).

Os PHAs são poliésteres sintetizados por uma variedade de microrganismos, são produzidos diretamente através da fermentação do substrato de carbono dentro do microrganismo, servindo como um reservatório intracelular para fornecimento de energia e carbono (Mitra et al., 2020; Verlinden et al., 2007). Atualmente, as matérias-primas para a produção de PHA são substratos de alto valor, tais como sacarose, óleos vegetais e ácidos gordos. Em teoria, qualquer fonte de carbono pode ser utilizada, incluindo a lignocelulósica a partir dos resíduos agroflorestais (Alzate, 2018). Os PHAs possuem características semelhantes aos plásticos comuns e são biocompatíveis e biodegradáveis, são considerados alternativas extremamente valiosas aos plásticos derivados de petróleo (Akaraonye et al., 2010; Castilho et al., 2009; Koller et al., 2017).

2.4.2.2. Biomoléculas e produtos naturais

As biomoléculas são muito utilizadas como matéria-prima ou ingredientes em alimentos, cosméticos e aplicações farmacêuticas, são de extrema importância e têm grande potencial no mercado de alguns tipos de biomassa (Alzate, 2018; González, 2015).

As biomoléculas são classificadas em:

- Óleos essenciais - São líquidos que contêm os compostos voláteis das plantas. São utilizados para acrescentar sabor aos alimentos, nos cosméticos (fragrância) e na indústria farmacêutica.
- Óleo resinas - compreendem óleos essenciais, resinas e outros que formam as frações voláteis e não voláteis da espécie a partir da qual são extraídas. Estes são comumente utilizados na indústria alimentar.
- Pigmentos e corantes naturais - são usados na indústria de cores.

Os recursos de base biológica são potentes máquinas produtoras de uma ampla variedade de produtos naturais, conhecidos como metabolitos secundários, tais como, compostos contendo azoto e/ou enxofre, compostos fenólicos e terpenóides (González, 2015). Grande parte dos metabolitos secundários apresenta atividade biológica específica que os tornam úteis numa variedade de aplicações como antimicrobianos,

antioxidantes ou antitumorais. Esses metabolitos desempenham um papel importante nas biorrefinarias (Ayala-Zavala et al., 2011; Cragg & Newman, 2005; Demirbas, 2006; González, 2015).

2.5. Macroalgas como matéria-prima

Uma alternativa emergente para obtenção de produtos energéticos e não energético em um sistema de biorrefinaria é a utilização da biomassa aquática (3G), em específico as macroalgas, conhecidas também como algas marinhas. Todas as macroalgas têm em comum uma parede celular celulósica e a presença de clorofila a em sua estrutura. Cada classe de algas marinhas possui pigmentos característicos que dão as diferentes cores e o nome do grupo específico, além de uma estrutura química que não podem ser encontradas nas plantas terrestres (Cesário et al., 2018; Filote et al., 2021).

Os métodos de cultivo de macroalgas incluem sistemas próximos à costa, sistemas off-shore, lagoas abertas ou instalações terrestres. Além disso, o desenvolvimento da aquicultura multitrófica integrada (IMTA), aumenta significativamente a sustentabilidade do cultivo de macroalgas, com base em uma série de benefícios econômicos, sociais e ambientais. Nestes cultivos, as espécies de algas são usadas como biofiltro nas águas residuais de criação de peixes e crustáceos. Água limpa, uma produção aquícola eficiente e menos expansiva, e biomassa de algas para a obtenção de produtos valiosos, são os três principais resultados da utilização de algas como biofiltros (Abreu et al., 2011; Bourgougnon et al., 2021; Filote et al., 2021; Pe uela et al., 2018).

Em 2018, a produção global de algas marinhas foi de 33 milhões de toneladas (peso úmido), das quais 97% foram cultivadas e 3% vieram de algas selvagens, essa produção global de algas marinhas representou cerca de 28% da aquicultura (FAO, 2018). A atual indústria de algas marinhas é muito mais desenvolvida nos países asiáticos, principalmente China, Japão e indonésia, onde a maioria das algas produzidas são obtidas através da aquicultura. No entanto, muitas iniciativas governamentais e privadas iniciaram projetos ambiciosos para aumentar a produção de algas marinhas mundialmente, proporcionando uma oportunidade de acesso a um mercado emergente para inúmeras aplicações (FAO, 2018, 2020).

As macroalgas são seres aquáticos autotróficos fotossintetizantes. São organismos aquáticos multicelulares, presentes nos oceanos, particularmente nas áreas costeiras, fixadas em rochas e em outras superfícies sólidas ou a flutuar de forma livre. Suas dimensões podem variar de alguns milímetros ou atingir dimensões superiores a 50 metros formando florestas aquáticas (D. A. de O. Ramos, 2019).

Esses organismos macroscópicos incluem um grande número de espécies e normalmente são agrupadas de acordo com a cor do seu pigmento fotossintético, como algas verdes (*Chlorophyta*), vermelhas (*Rodophyta*) e castanhas (*Phaeophyta*) (Figura 2-4) (Cesário et al., 2018; Sambusiti et al., 2015).

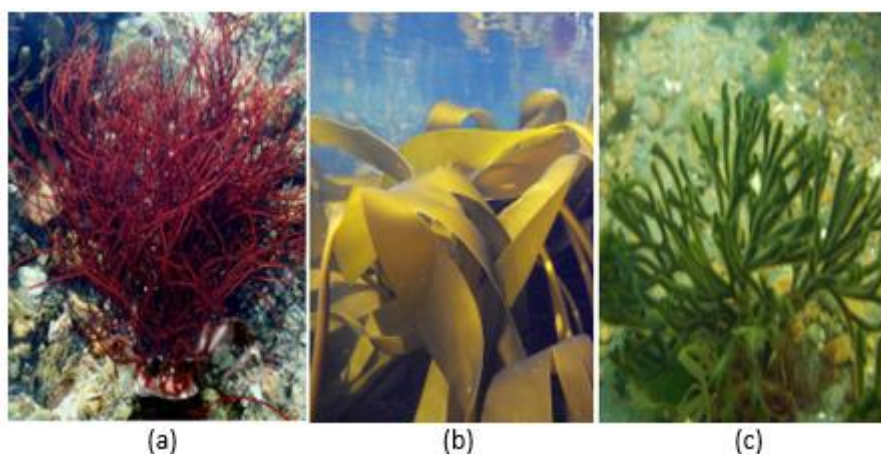


Figura 2-4: Os três principais grupos de algas marinhas - (a) *Rhodophyta*, (b) *Phaeophyta*, (c) *Chlorophyta*.

Fonte: AlgaeBase (2021).

O metabolismo das macroalgas é similar ao das plantas terrestres, entretanto, as macroalgas contêm uma composição química diferente (Tabela 2-1), principalmente em relação à fração de hidratos de carbono (Cesário et al., 2018). Os hidratos de carbono correspondem a maior fração da composição bioquímica das macroalgas (33-75% em peso seco), estes incluem polissacarídeos de glicose, como celulose e amido (algas verdes e vermelhas), celulose e laminarina (algas castanhas) (Husemann, 1968), e também polissacarídeos complexos, como ulvanas em algas verdes, alginato e fucoidano em algas marrons (Husemann, 1968), e ágar ou carragenina em algas vermelhas (Jol et al., 1999). Estes polissacarídeos são classificados de acordo com sua função biológica, e são divididos em dois grupos: armazenamento de energia e polissacarídeos estruturais.

Tabela 2-1: Composição bioquímica dos grupos de macroalgas tendo como base a matéria seca (%).

Fonte: Adaptado de Hassan et al. (2019) e Zaky et al. (2018).

	<i>Phaeophyta</i> (castanhas)	<i>Rhodophyta</i> (vermelha)	<i>Clorofita</i> (verde)
Composição aproximada (% em peso seco)			
Cinza	8,7-41,2	2,5–25,7	18,0–30,0
Proteína	1,1-26,8	10,2-22,7	10,7-25,9
Lípido	0,6-3,4	0,7-7,4	1,0–3,5
Carboidratos	33,9-76,0	53,2-75,8	53,0-69,9
Reserva de energia	Laminarina 0,8-24	Amido Florídeo	Amido 17
Estrutural	Manitol 5-20 Alginato 10-30 Fucoidan 1-10 Celulose 2-7	Carragenina 7-12 Agar 6 - 36 Celulose 7–10	Hemicelulose 20 Celulose 9 Ulvan 25
Pigmento fotossintético	Carotenóides Clorofila <u>a</u> e <u>c</u> (fucoxantina)	Xantofila Ficobilina Clorofila <u>a</u> e <u>d</u>	Carotenóides Clorofila <u>a</u> e <u>b</u>

As macroalgas possuem proteínas entre 10-30% em peso seco, esses teores proteicos, assim como o perfil de aminoácidos varia de acordo com as espécies e as estações climáticas (Fleurence, 2004). As algas vermelhas são conhecidas por conter níveis de proteínas semelhantes às fontes de proteína tradicionais, como carne, ovo, soja e leite (Harnedy & Fitzgerald, 2011). Em geral, a maioria das algas marinhas contém todos os aminoácidos essenciais, oferecendo uma fonte valiosa de proteínas para alimentação humana (Bleakley & Hayes, 2017; Fleurence, 2004; Fleurence et al., 2018; Morais et al., 2020; Má. V. Ramos et al., 2000). Além disso, as proteínas de macroalgas também podem ser utilizadas como ração animal, seja na aquicultura, no setor agropecuário ou para animais de estimação (Bleakley & Hayes, 2017; Morais et al., 2020).

Apesar do baixo teor de lipídios das macroalgas (inferior a 6% em peso seco), quando comparado com as plantas terrestres, as macroalgas são uma excelente fonte de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) de cadeia longa ômega-3 e ômega-6. A alga vermelha *Gracilaria corticata*, é rica em PUFAs, contém 65,6% do total de ácidos graxos (Kumari et al., 2013). Os PUFAs são nutricionalmente importantes, por apresentarem efeitos benéficos na prevenção de vários tipos de câncer, e exibir atividades antidiabética, anti-hipertensiva e antiinflamatória, possuindo grande importância nas indústrias de alimentos funcionais ou farmacêutica (Kumari et al., 2010, 2013; McDermid & Stuercke, 2003). Os pigmentos são excelentes substitutos dos pigmentos sintéticos e podem ser utilizados como corantes na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (Baghel et al., 2014).

As cinzas, são resultados das capacidades das macroalgas em acumular altos níveis de íons metálicos, principalmente potássio, sódio, magnésio e cálcio, de seu ambiente aquático (Kostas et al., 2016, 2021a; Schiener et al., 2015; Yanik et al., 2013). O alto teor de cinzas nas algas marinhas também sugere seu uso como fertilizante na agricultura, tais como, as espécies de *Ascophyllum*, *Ecklonia* e *Fucussão* vendidos como aditivos de solo e funcionam como fertilizantes e condicionadores de solo (Cesário et al., 2018).

A complexidade do ecossistema marinho expõe as algas a uma combinação de diferentes concentrações de luz e oxigênio, o que leva principalmente à formação de radicais livres e outros agentes oxidantes fortes (Kostas et al., 2021a). Assim, uma série de compostos polifenólicos (taninos, ácidos fenólicos), pigmentos e carotenoides são acumulados naturalmente nas algas e comprovaram evitar a formação desses radicais livres, demonstrando possuir diferentes atividades biológicas, incluindo antioxidantes (URQUIAGA & LEIGHTON, 2000), anti-inflamatório (Lopes et al., 2012), antimicrobiano (Kajiwara et al., 2006), antiviral (Morán-Santibañez et al., 2018), antidiabético (Iwai, 2008), anticâncer (Zenthoefer et al., 2017), propriedades neuroprotetoras (Murugan et al., 2015), propriedades hepatoprotetoras (Kang et al., 2012) e propriedades reguladoras de hipertensão (Gómez-Guzmán et al., 2018).

Como matéria-prima, as macroalgas oferecem vantagens importantes (Ge et al., 2011; Jung et al., 2013; Kostas et al., 2021b; Kraan, 2013):

- a) são consideradas como um sistema biológico muito eficiente para a produção de componentes orgânicos através de energia solar;
- b) apresentam uma alta taxa de crescimento e produtividade de biomassa;
- c) seu cultivo pode ser feito em água marinha ou salobra, não comprometendo a produção de alimentos e nem a disputa por terras aráveis;
- d) os nutrientes para o cultivo de algas (especialmente nitrogênio e fósforo) podem ser obtidos a partir de águas residuais, oferecendo dupla funcionalidade: captura de CO₂ e tratamento de efluentes;
- e) maior eficiência fotossintética do que as plantas terrestres, agindo como um sumidouro de CO₂ de curto prazo (para produzir 1 kg de biomassa seca de algas são utilizados cerca de 1,83 kg de CO₂);
- f) A ausência de lignina, o polímero que confere rigidez as plantas, implica no uso menos intensivo de energia e reagentes no processamento para recuperação dos produtos desejados; o que favorece a avaliação do ciclo de vida (LCA) e as análises técnico-econômicas (TEA).

As macroalgas servem também de abrigo, de berçário e de refúgio para várias espécies de invertebrados e pequenos vertebrados, constituem os habitats marinhos bentônicos com vegetação mais extensa e produtiva, e desempenham um papel importante no sequestro de CO₂ (Gajaria et al., 2017). A importância das macroalgas em ecossistemas naturais aumenta com a crescente eutrofização da biosfera, pois elas garantem oxigênio para a manutenção da vida em praticamente todos os ecossistemas do planeta Terra. Ao longo da costa global dos oceanos (costões rochosos entre marés, recifes de coral ou prados de ervas marinhas), seu habitat foi estimado para cobrir cerca de 3,4 milhões de km² e suportar uma produção primária líquida global de emissões de oxigênio de cerca de $1,5 \cdot 10^{15}$ gC/ano (Krause-Jensen et al., 2018).

Entretanto, de acordo com Torres et al. (2019) nos últimos 10 anos tem havido um acentuado aumento mundial de proliferação de algas, conhecidas como marés verdes, marés vermelhas e marés castanhas causada provavelmente pela eutrofização da água (excesso de nutrientes, causados pela poluição urbana através de despejos de rejeitos no mar) em combinação com as mudanças climáticas (mudanças de temperatura nas águas marinhas, alteração dos níveis de salinidade). Atualmente, essas marés de algas marinhas representam uma matéria-prima de biomassa subutilizada, o qual podem causar sérios problemas ambientais e econômicos a população local (Wang & Hu, 2017). O aproveitamento dessas algas como fonte de biomassa para produção de novos produtos em um conceito de biorrefinaria (como por exemplo, biocombustíveis, fertilizantes, rações ou biopolímeros), contribui para a economia das comunidades afetadas e proporciona uma melhoria das condições ambientais das praias e áreas marinhas, melhorando a gestão do turismo local (Balina et al., 2017; Barbot et al., 2016; Goh & Lee, 2010; Kositkanawuth et al., 2017; Mahadevan, 2015).

Em uma biorrefinaria de macroalgas, a abordagem em cascata, permite que os produtos de maior valor agregado sejam produzidos primeiro e aqueles de menor valor sejam produzidos em seguida, conforme demonstrado na Figura 2-5. Com essa abordagem, aumenta-se a eficiência da cadeia produtiva e maior valor é acrescentado à biomassa utilizada (Balina et al., 2017; Khoo et al., 2019; Torres et al., 2019)

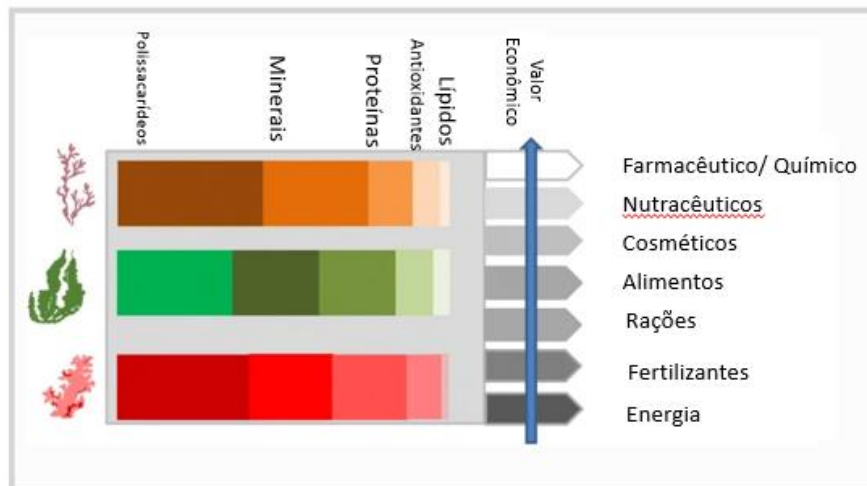


Figura 2-5: Valor agregado dos compostos presentes nas macroalgas (marrons, verdes e vermelhas).
Fonte: (Torres et al., 2019)

Um projeto de biorrefinaria sustentável deve permitir a produção industrial com mínimo impacto ambiental. A redução sequencial da biomassa residual após cada etapa diminui a demanda de energia e reagente, e melhora o rendimento da extração posterior. Portanto, o design do processo em si é importante para uma maior otimização, protocolos adequados para extração devem ser escolhidos, de modo que as propriedades estruturais e funcionais de diferentes produtos sejam mantidas (Zollmann et al., 2019).

Para biomassa de algas, uma etapa preliminar importante é a remoção de sais minerais, que aumenta o conteúdo de biomassa orgânica e melhora a qualidade da biomassa para o processamento posterior. Isso também reduz os efeitos inibitórios das cinzas em vários processos, como tratamento hidrotérmico, hidrólise enzimática, fermentação e digestão anaeróbica.

Os compostos químicos contidos na biomassa de macroalgas, tais como proteínas, lipídios, hidratos de carbono, pigmentos, carotenoides, vitaminas e minerais, os quais fracionados podem oferecer uma fonte de matéria-prima auspiciosa para as indústrias de transformação, seja como produto final ou produto intermediário, a Figura 2-6 demonstra um esquema geral sobre esse conceito (Connan et al., 2004; Khan et al., 2007; Kositkanawuth et al., 2017; Marinho et al., 2016; van Hal et al., 2014)

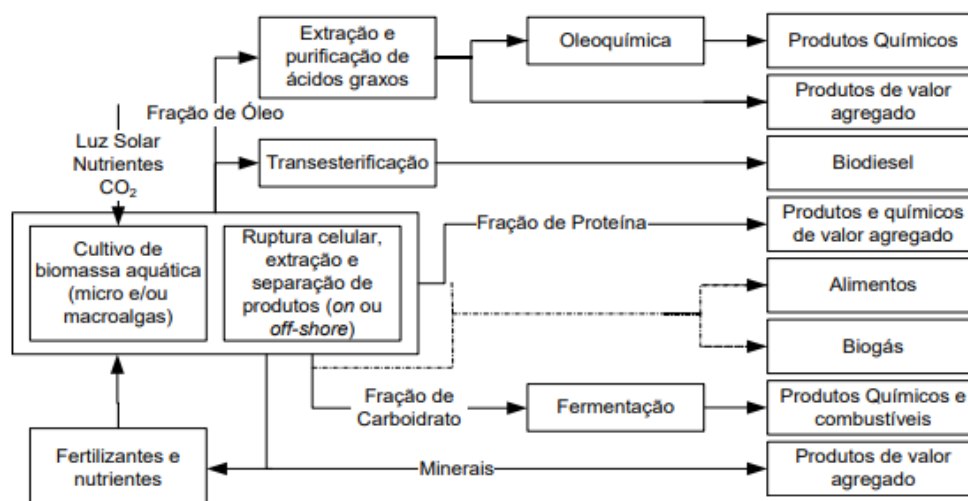


Figura 2-6: Esquema geral do conceito de biorrefinaria aquática.

Fonte: (van Ree et al., 2007).

A utilização de biomassa de algas marinhas como matéria-prima para as biorrefinarias enquadra-se no contexto da “Economia Azul” que busca valorizar a biodiversidade existente nos oceanos como alternativa aos combustíveis fósseis, de modo que, se implementados de forma eficiente, contribuem para a bioeconomia circular (Flemsgæter, 2020).

2.6. *Ulva lactuca*

Ulva lactuca, também conhecida por alface-do-mar, representada na Figura 2-7, pertence ao género *Ulva*, ordem *Ulvales* e filo *Chlorophyta*. É uma das macroalgas verdes mais utilizadas mundialmente, e foi identificada pela primeira vez por Linnaeus em 1753 (Kong et al., 2011).



Figura 2-7: Macroalga *Ulva lactuca*. Fonte própria.

A *Ulva lactuca* é uma macroalga rica em hidratos de carbono (60-65%) e proteínas (16-30%), e baixa concentração de lípidos (4-5%) (Lahaye & Robic, 2007; Msuya & Neori, 2008). Os principais polissacarídeos incluem celulose e hemicelulose, ulvana e amido, sendo a ulvana formada pela repetição de sequências de unidades de dissacarídeos

compostas por ramnose sulfatada e ácido glucurônico, ácido idurônico ou xilose; enquanto o amido e a celulose são compostos por unidades de glicose, mas com configurações espaciais diferentes (Michalak, 2018; Sudhakar et al., 2018)

As proteínas desta alga contêm um elevado nível de aminoácidos, especialmente os aminoácidos essenciais, tais como a valina, leucina, lisina e treonina. Possui também vitaminas, minerais e alguns ácidos graxos polinsaturados importantes, como ácido oleico, linoleico e linolênico. Estudos já realizados demonstraram a importância desta macroalga como matéria-prima na indústria farmacêutica, alimentar e de energia (Abirami & Kowsalya, 2011; Santos, 2017; Tabarsa et al., 2012; Yaich et al., 2011, 2015). A *Ulva lactuca* apresenta talo verde laminar, formado por duas camadas de células. Normalmente essa espécie ocupa a zona entremarés do litoral marinho, onde se fixam ao substrato (Figura 2-8 (a)). Cada célula vegetativa se caracteriza-se por conter um vacúolo que ocupa cerca de 60% do volume da célula, e um único cloroplasto que se localiza na periferia celular, voltado à superfície do talo (Figura 2-8 (b)), ocupando grande parte da célula com um ou mais pirenóides (onde ocorre o armazenamento do amido como material de reserva) (Pilatti, 2016).

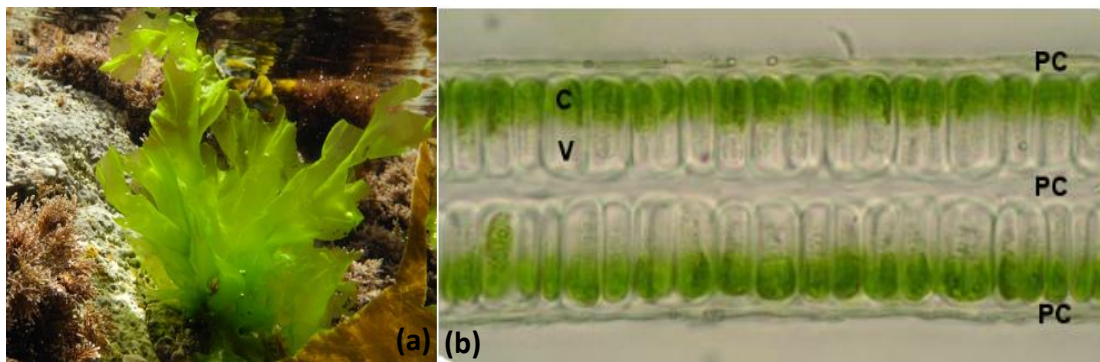


Figura 2-8: (a) - *Ulva lactuca*; (b) - Micrografia de luz de uma secção transversal do talo de *Ulva lactuca*. O talo apresenta duas camadas de células mais longas do que largas. O cloroplasto (C) e o citoplasma se concentram próximos à superfície da célula. O vacúolo (V) ocupa cerca de 60% do volume celular. A parede celular (PC) é facilmente observada (Pilatti, 2016).

A parede celular de *Ulva lactuca* é composta maioritariamente por dois polissacarídeos: celulose, que forma o esqueleto da parede celular, e ulvanas, polissacarídeo sulfatado que constitui a matriz (Pilatti, 2016). Já o amido é usado como material de reserva energética intracelular.

A *Ulva lactuca* está presente durante o ano todo, sendo mais abundante no verão e no outono. No que se diz respeito ao seu cultivo, esta espécie cresce abundantemente em zonas marinhas ricas em nutrientes, no entanto, em certas condições podem formar as marés verdes causadas pela eutrofização (Mhatre et al., 2019; Santos, 2017).

Essa espécie é considerada oportunista, por possuir rápida capacidade de absorção e armazenamento de nutrientes, funciona muito bem como biofiltro na remoção de elementos tóxicos de águas contaminadas pelas actividades humanas (Bastos, 2019; Copertino et al., 2009). Estas características fazem com que a *Ulva lactuca* seja uma importante alternativa para os processos de biorremediação na reciclagem de nutrientes dos sistemas de aquacultura e de efluentes residuais ou industriais.

Além da sua alta taxa de crescimento e adaptabilidade a diferentes climas, a *Ulva lactuca* oferece uma alta produção de biomassa, que se bem manejada o crescimento e cultivo dessa espécie podem fornecer serviços ecossistêmicos inestimáveis. (Wu et al., 2018) calcularam, durante uma das maiores marés verdes registradas na China, o potencial de remoção de N e P do ambiente. Os autores registraram crescimento da biomassa de 12,80% ao dia, aumentando de $1,1 \times 10^4$ para $4,1 \times 10^6$ toneladas de biomassa fresca em 50 dias, com um potencial de remoção de $7,46 \times 10^3$ e $1,05 \times 10^3$ toneladas de N e P, respectivamente.

2.6.1. Biorrefinaria de *Ulva lactuca*

A composição química da *Ulva lactuca* sugere que, se fracionada, sua biomassa pode fornecer compostos químicos básicos, como hidratos de carbono, lípidos, amido, proteínas, vitaminas e minerais (Lahaye & Robic, 2007; Magnusson et al., 2016; Mhatre et al., 2019; M. S. Prabhu et al., 2020; Safavi et al., 2019; Valderrama D, Cai J, 2014).

O sal de algas marinhas é um produto existente, é produzido há 2500 anos no Japão, China e Coreia, sendo acumulado do ambiente marinho local e parcialmente retidos no fluido intracelular dentro dos vacúolos das células da *Ulva lactuca*. O sal de algas marinhas é de particular interesse, pois constitui vários tipos de bioativos, minerais como iodo, juntamente com Na, K, Mg e Ca dietéticos que podem ser importantes para o crescimento humano e vegetal (Magnusson et al., 2016; Robin et al., 2018; Trivedi et al., 2016).

Nas espécies de *Ulva*, o amido é armazenado intracelularmente na forma de grânulos de 5 a 7 μm com formatos redondos, esféricos a irregulares (M. Prabhu et al., 2019; M. S. Prabhu et al., 2020). Este amido pode ser convertido em biocombustível através da fermentação a bioetanol, pode também ser utilizado na produção de fibras têxteis, cosméticos, farmacêuticos e aplicações biotecnológicas como os biopolímeros (Manivasagan & Oh, 2016).

A fração de lípidos presentes nesta alga, inclui ácidos graxos polinsaturados essenciais, tais como o ácido oleico, linoleico e linolénico. Tal combinação pode contribuir para a prevenção de doenças cardiovasculares, osteoartrite, diabetes e ter atividades anti-inflamatórias. Os lípidos incluem também pigmentos como clorofila *a* e *b*, e carotenoides como o betacaroteno (Gajaria et al., 2017; Rodrigues et al., 2015; Santos, 2017).

O conteúdo de ulvanas, o polissacarídeo sulfatado da *Ulva lactuca*, tem recebido grande atenção devido à sua composição química peculiar com potenciais aplicações na indústria farmacêutica, biomédica e na agricultura (Cunha & Grenha, 2016; Lahaye & Robic, 2007; Robic, Bertrand, et al., 2009; Robic, Rondeau-Mouro, et al., 2009).

Geralmente as proteínas desta alga contêm um elevado nível de aminoácidos essenciais, como valina, leucina, lisina e treonina; e uma pequena concentração de aminoácidos não essenciais, como o ácido aspártico e glutâmico (26% do teor total de aminoácidos) que são os responsáveis pelo sabor das algas marinhas. As proteínas são altamente

significativas em termos de produto de valor industrial como suplemento dietético para alimentação humana ou animal (Gajaria et al., 2017; Santos, 2017; Seghetta et al., 2016).

A celulose de macroalgas é um polímero muito forte, é menos afetada pelos tratamentos de extração a montante em comparação com quaisquer outros componentes em um sistema de biorrefinaria. Tem um potencial para ser utilizado como matéria-prima nas indústrias de papel ou biocombustíveis. Além disso, a celulose tem sido considerada um importante polímero para várias outras aplicações industriais, incluindo a síntese de nanocompósitos, microcristais e material de reforço de nanocristais e bioplástico (Klemm et al., 2005; Ng et al., 2015; Trivedi et al., 2016).

Nos últimos anos, vários estudos publicados mostraram que é possível o fracionamento da *Ulva lactuca* em diversos compostos (Tabela 2-2) para serem utilizados como produto direto (biocombustíveis) ou sub-produtos para indústria alimentar, farmacêutica e agrícola (Lahaye & Robic, 2007; Magnusson et al., 2016; Mhatre et al., 2019; Safavi et al., 2019).

Tabela 2-2: Estudos de biorrefinaria de macroalgas utilizando *Ulva latuca*. Fonte: M. S. Prabhu et al. (2020).

Espécies	Produtos de biorrefinaria	Autores
<i>Ulva lactuca</i>	Acetona, butanol, etanol e 1,2-propanodiol	(van der Wal et al., 2013; van Hal et al., 2014)
<i>Ulva lactuca</i>	Lípidos, ulvanas e celulose	(Jmel et al., 2019)
<i>Ulva lactuca</i>	Ração animal, fertilizante e biocombustível	(Bikker et al., 2016)
<i>Ulva lactuca</i>	Extrato mineral, lípido, ulvana, proteína e celulose	(Gajaria et al., 2017)

Viabilizar o uso do potencial da *Ulva lactuca* como matéria-prima em escala industrial, é atualmente o maior desafio, no entanto, a implementação de um sistema de biorrefinaria permite novas formas de aproveitamento sustentável dessa biomassa, otimizando a sua utilização e o descarte mínimo de resíduos (Kostas et al., 2021a) Justifica-se assim a relevância do estudo apresentado.

DESCRIÇÃO TÉCNICA

- 3.1 Coleta da biomassa
- 3.2 Procedimento experimental
- 3.3 Método de quantificação de carotenóides e proteínas totais

3 DESCRIÇÃO TÉCNICA

3.1 Coleta da biomassa

As algas da espécie *Ulva lactuca* (identificada através de características morfológicas) utilizada para a realização deste trabalho, foram coletadas diretamente na Praia de Matosinhos, no distrito do Porto, durante o mês de agosto de 2021, quando as algas eram arrastadas pela maré até a praia (Figura 3-1).



Figura 3-1: Local de coleta das algas - Matosinhos, Portugal (41,1844 °N, 8,6963 °W).

3.1.1. Preparação da biomassa

Após a coleta, as algas foram lavadas com água corrente para retirada de sedimentos e resíduos, sendo, em seguida, lavadas com água destilada para retirada do sal. A seguir, duas porções de 100 g de biomassa foram retiradas. A primeira porção foi utilizada como matéria-prima para realização dos experimentos e a segunda porção foi desidratada em estufa a 40 °C por 12 horas para conhecimento da massa seca.

3.2. Procedimento experimental

O processamento da biomassa fresca de *Ulva lactuca* em biorrefinaria para extração de diferentes compostos, consistiu em uma sequência de etapas de forma a reaproveitar os resíduos de cada etapa. Os procedimentos executados estão descritos a seguir:

3.2.1. Extração de amido e sais minerais – Etapa 1.

A extração de fração rica em amido foi realizada conforme relatado por (M. Prabhu et al., 2019), onde 100 g de biomassa fresca de *Ulva lactuca* foram misturadas em 1400 mL de água destilada e desintegradas com um homogeneizador ultrassônico (SONOPLUS HD 2000.2 Serie) para ruptura celular e liberação do amido. Uma mistura pastosa foi obtida e sequencialmente, essa mistura foi filtrada com filtros de náilon de poro de 45 e 10 μm . Após a filtragem obteve-se uma porção sólida e outra líquida, como ilustrado na Figura 3-2 (a) e Figura 3-2 (b). A porção sólida foi separada para ser utilizada na etapa 2.



Figura 3-2: (a) Parte sólida e (b) líquida da biomassa após filtragem.

A porção líquida foi centrifugada (Centrífuga Heraeus Megafuge 16R), a 5000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi armazenado em pequenos frascos (Figura 3-3 (a)) e foram liofilizados para recuperação da fração rica em sais presentes. A parte sedimentada após a centrifugação, foi lavada e purificada três vezes com etanol absoluto (total de 300 ml) para remoção de pigmentos e lípidos. Após lavada, essa mistura esbranquiçada foi centrifugada, o sobrenadante (Figura 3-3 (b)) foi separado para ser utilizado na etapa 2, os grânulos obtidos foram secos a 40 °C até obter massa constante para verificação da fração rica em amido.



Figura 3-3: (a) Parte líquida para recuperação de sais, (b) Fração de amido decantada

3.2.2. Extração de lípidos – Etapa 2.

A extração de lípidos foi realizada conforme relatado por (Glasson et al., 2017) pelo método do etanol absoluto. A porção sólida de *Ulva Lactuca* retida na filtragem da etapa 1 foi suspensa em etanol absoluto (500 mL) a temperatura ambiente e foi misturada durante 3 horas, usando um agitador magnético. Após isso, a mistura foi filtrada com filtros de náilon de poro de 50 μm usando uma unidade de filtração a vácuo, como ilustrado na Figura 3-4.



Figura 3-4: Filtração a vácuo da biomassa.

Esse procedimento de extração acima foi repetido três vezes. O etanol total utilizado foi adicionado ao sobrenadante de etanol recuperado na etapa de purificação do amido (Figura 3-5 (a)) para obter um produto concentrado e seco em um rotavapor (BUCHI RE-111) para recuperação de lípidos (Figura 3-5 (b)). A fração sólida retida no balão do rotavapor foi liofilizada para registro da massa da fração de lípidos (Figura 3-5 (c)).



Figura 3-5: (a) Etanol utilizado na etapa 1 e na filtragem a vácuo; (b) Evaporação do etanol no rotavapor; (c) fração de lípidos.

3.2.3. Extração de ulvanas – Etapa 3.

A extração de ulvanas foi realizada conforme relatado por (Robic, Bertrand, et al., 2009) pelo método de oxalato de amônio, que funciona como um agente quelante de cálcio. O uso de agentes quelantes de cálcio facilita a extração de ulvanas por meio do sequestro de íons de cálcio, rompendo ligações químicas formadas por ulvanas na presença desses íons de cálcio dentro da parede celular da alga (Alves et al., 2013a).

A biomassa sólida filtrada na etapa 2 (Figura 3-6 (a)) foi seca a 23 °C por 5 horas e, em seguida, suspensa em 1 L de oxalato de amônio ((NH₄)₂ C₂O₄) (0,05 M). A mistura foi incubada a 80 °C durante 2 horas com agitação suave a cada 15 min. Após a incubação, a mistura, ainda quente (aproximadamente 45 °C), foi submetida à centrifugação por 10 min, a 1811 × g; após centrifugada (Figura 3-6 (b)), a parte sólida foi separada para ser utilizada para extração de proteínas na etapa 4.

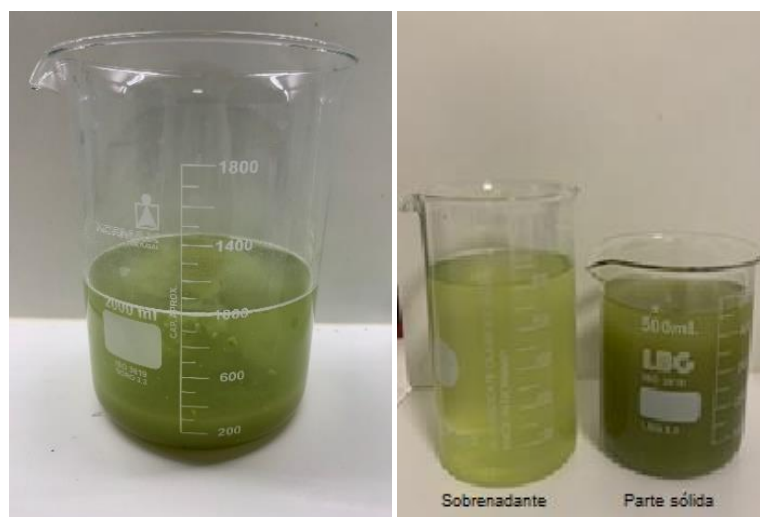


Figura 3-6: (a) Mistura centrifugada; (b) Fases separadas.

O sobrenadante foi concentrado para cerca de 300 mL e então dialisado (Figura 3-7) usando membrana MWCO de 12 kDa durante 24 h, com 3 trocas de água destilada. O dialisado foi liofilizado e pesado para registro da massa da fracção rica em ulvanas.

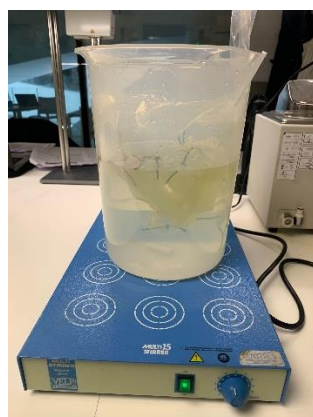


Figura 3-7: Processo de diálise.

3.2.4. Extração de proteínas – Etapa 4.

A extração de proteínas foi realizada conforme relatado por (Mhatre et al., 2019) através de tratamento alcalino, que consiste na dissolução da biomassa em NaOH, de modo que as proteínas possam ser facilmente liberadas no sistema. A parte de biomassa sólida remanescente após a centrifugação na etapa 3 foi adicionado a 1 L de solução de NaOH 0,25 M a 80 °C por 2 horas (Figura 3-8 (a)). Em seguida, a mistura foi resfriada à

temperatura ambiente e centrifugada por 10 min a $1811 \times g$, a parte sólida foi separada para ser utilizada na etapa 5. O sobrenadante (Figura 3-8 (b)) foi recolhido e neutralizado usando HCl 6 M.

O líquido neutralizado foi concentrado para 300 mL, dialisado usando membrana MWCO de 12 kDa durante 24 horas, com 3 trocas de água destilada. O dialisado foi liofilizado e pesado para registro da massa da fração de proteínas.

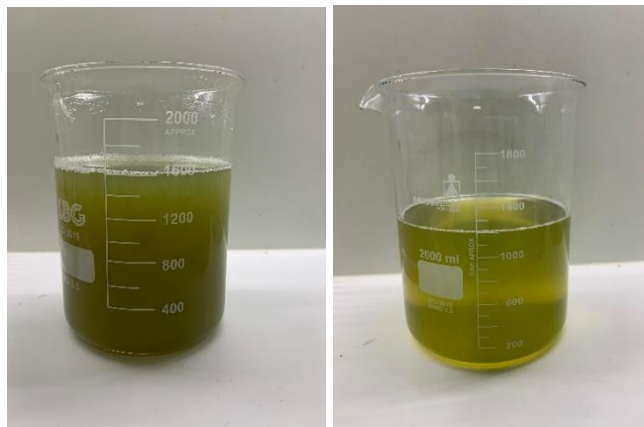


Figura 3-8: (a) Biomassa após tratamento alcalino; (b) Parte líquida após centrifugação.

3.2.5. Extração de celulose – Etapa 5.

A extração de celulose foi realizada conforme relatado por (M. Prabhu et al., 2019). O resíduo sólido (Figura 3-9) separado após centrifugação na etapa 4 foi lavado com excesso de água desionizada para atingir o pH neutro, o qual a seguir foi filtrado em filtro de náilon de poro de 200 μm . O resíduo sólido filtrado foi seco a 40 °C e a massa da fração de celulose foi registrada.



Figura 3-9: Parte sólida centrifugada após tratamento alcalino.

As sequências dos procedimentos estão apresentadas na Figura 3-10.

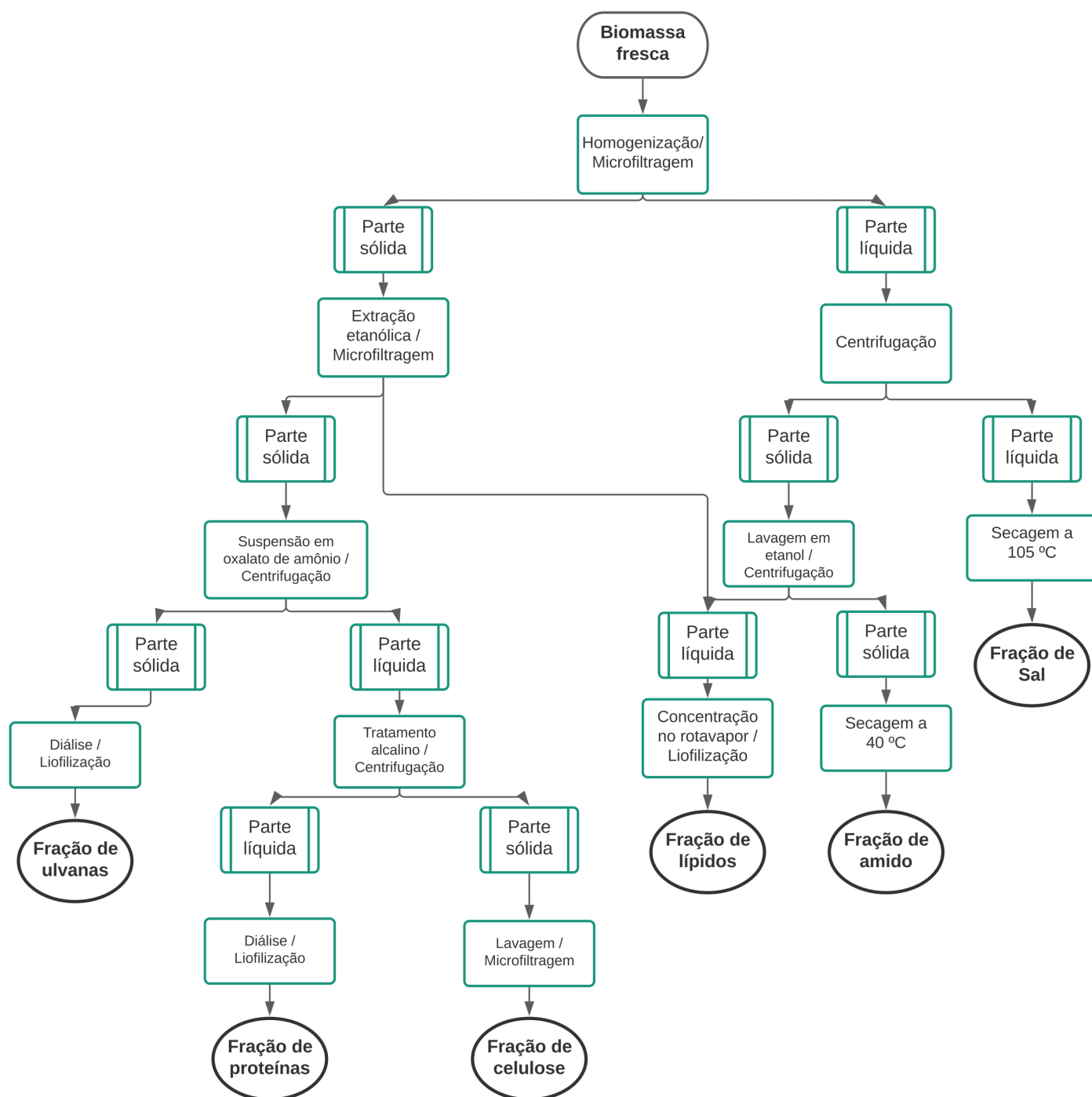


Figura 3-10: Biorrefinaria aplicada a biomassa de *Ulva lactuca*: Produção integrada de diferentes tipos de produtos químicos: F1-F6.

A percentagem de cada fração extraída foi calculada em relação à biomassa seca inicial de *Ulva lactuca* utilizada. A biomassa total recuperada na forma de todas as frações foi calculada através da Equação 1.

$$\text{Biomassa recuperada} = \frac{PS_{f1} + PS_{f2} + \dots + PS_{f6}}{PS} \quad \text{Equação 1: Biomassa Recuperada}$$

Onde $PS_{f1} - PS_{f6}$ representam o peso seco de cada uma das seis frações recuperadas e PS representa o peso seco da biomassa da *Ulva Lactuca* usada para o procedimento.

3.3. Métodos de quantificação de carotenoides e proteínas totais

3.3.1. Determinação de carotenoides totais por espectrofotometria

Os carotenoides totais foram expressos em Betacaroteno e quantificados utilizando a curva de calibração padrão comercial de Betacaroteno (Sigma- Aldrich).

3.3.1.1. Preparação da curva de calibração

Para construção da curva de calibração, foram preparadas solução padrão de Betacaroteno com diferentes concentrações (0,2 mg/mL, solução estoque) em Dimetilsulfóxido (DMSO), e fez-se as concentrações descritas na Tabela 3-1.

Tabela 3-1: Preparação das amostras para curva de calibração com Betacaroteno.

Amostra	Volume de solvente (μL)	Solução (μL)	[Conc.] mg/mL
A	300	100 de solução estoque	0,05
B	200	200 da diluição de A	0,025
C	200	200 da diluição de B	0,0125
D	200	200 da diluição de C	0,006125
E	200	200 da diluição de D	0,003125
F	200	200 da diluição de E	0,001563
G	400	0 = branco	0

A seguir 200 μl de cada amostra foram colocadas em uma microplaca para leitura da absorbância em um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 450 nm. Com os resultados da absorbância, fez-se o gráfico, no qual determinou-se a equação linear da curva de calibração que foi utilizada para estimar a quantidade de carotenoides presentes na amostra.

3.3.1.2. Análise dos carotenoides totais na fração de lípidos

Para verificação dos carotenoides totais na fração de lípidos, preparou-se 2 amostras de concentração 0,05 mg/ml (extrato/DMSO), a seguir 200 μl de cada amostra desse extrato foram colocados em poços de microplaca (experimento realizado em duplicata). Após isso, fez-se a leitura da absorbância a 450 nm de comprimento de onda em um espectrofotômetro para verificação da quantidade de carotenoides totais por mg de extrato utilizado.

3.3.2. Determinação de proteínas totais por espectrofotometria

A concentração de proteínas totais na fração recuperada foi determinada através do Kit de ensaio de proteína BCA (#23227, Thermo Scientific), o qual é constituído por dois reagentes de trabalho (A+B) e albumina de soro bovino (ABS), utilizado como padrão.

O método de análise por este kit baseia-se na deteção colorimétrica e quantificação de proteínas totais pelo método com ácido bicinconínico (BCA) que é dada pela redução do íon Cu^{2+} para Cu^{+} pelas proteínas em meio alcalino, e o cátion cobre (Cu^{+}); é detetado colorimetricamente. A estrutura macromolecular da proteína, o número de ligações peptídicas e a presença de quatro aminoácidos em particular (cisteína, cistina, triptofano e tirosina) são relatados como responsáveis pela formação da coloração na reação com o BCA. A concentração de proteínas é geralmente determinada e relatada em relação a padrões de uma proteína comum tal como albumina de soro bovino e a concentração de cada amostra desconhecida é determinada com base em uma curva de calibração (Smith et al., 1985)

3.3.2.1. Preparação do padrão de ABS diluído

Para preparação da solução estoque padrão de ABS, 2mg de ABS foi misturada em 1 mL de água deionizada. A seguir, 8 pontos de concentrações finais de ABS foram preparadas, como demonstrado na Tabela 3-2. O solvente utilizado foi o DMSO.

Tabela 3-2: Preparação das amostras para curva de calibração com ABS.

Amostra	Solvente (μL)	Solução (μL)	Concentração final de ABS (mg/mL)
A	0	300 solução estoque	2000
B	125	375 solução estoque	1500
C	325	325 solução estoque	1000
D	175	175 da diluição de B	750
E	325	325 da diluição de C	500
F	325	325 da diluição de E	250
G	325	325 da diluição de F	125
H	400	100 da diluição de G	25
I	400	0	0

Para a curva, 25 μL de cada amostra foram adicionadas em uma microplaca.

3.3.2.2. Preparação do reagente de trabalho (solução A+B)

O reagente de trabalho foi preparado através da mistura de 50 partes do reagente A com 1 parte do reagente B. A quantidade de reagente utilizado foi estimada pelo número de amostras da fração de proteínas recuperada a serem analisadas com os pontos de concentração da curva de calibração.

3.3.2.3. Preparação das amostras da fração de proteínas recuperada

Para preparação das amostras 1 mg da fração de proteínas foi misturada com 1ml de DMSO, a seguir 4 amostras de 25 μ L cada foram colocadas na microplaca. Com isso, 200 μ L de reagente de trabalho foram adicionados em cada amostra colocada na microplaca, em seguida, a microplaca foi levemente movimentada para uma homogênea dissolução. A seguir, a microplaca foi tapada e incubada durante 30 minutos a 37 °C.

3.3.2.4. Curva de calibração

Após o resfriamento da microplaca, fez-se a leitura da absorbância a 562 nm. Com os resultados obtidos para as concentrações do BSA, fez-se o gráfico, no qual determinou-se a equação linear da curva de calibração. A concentração de proteínas totais foi expressa em mg por g da fração utilizada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caraterização da biomassa

4.2 Produtos extraídos

4.1. Caracterização da biomassa

A biomassa de *Ulva lactuca* foi caracterizada através da massa seca. A biomassa fresca utilizada como matéria-prima para o processo de biorrefinaria integrada, correspondeu a $17,3 \text{ g} \pm 0,23\%$ de massa seca após o processo de desidratação a 40°C .

Neste estudo seis produtos diferentes foram extraídos da biomassa de *Ulva lactuca*, como demonstrado na Figura 3-12.

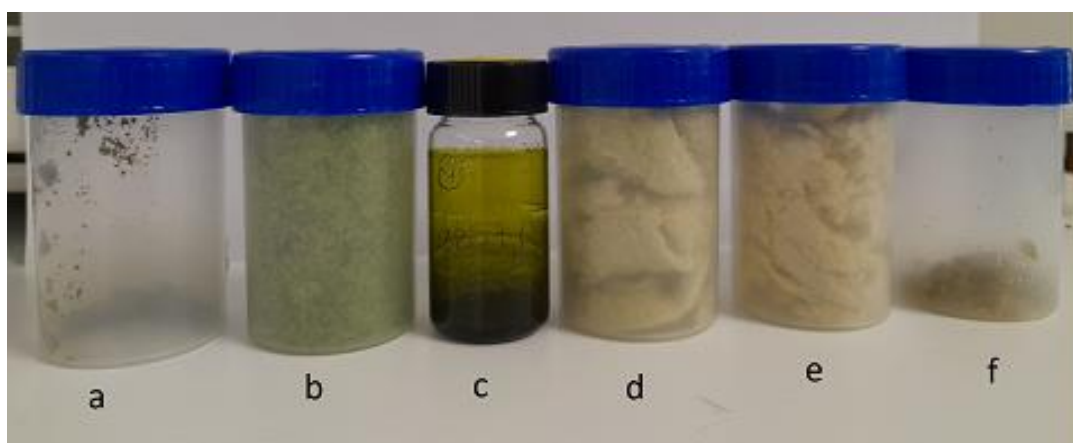


Figura 3-11: Imagem dos produtos finais (secos) extraídos - (a) fração de amido, (b) fração de sais, (c) fração de lípidos, (d) fração de ulvanas, (e) fração de proteínas, (f) fração de celulose.

A quantidade de biomassa total recuperada neste trabalho foi calculada através da Equação 1, cujo valor correspondeu a 12,69 g de produtos recuperados. A demonstrar a composição final da biomassa recuperada.

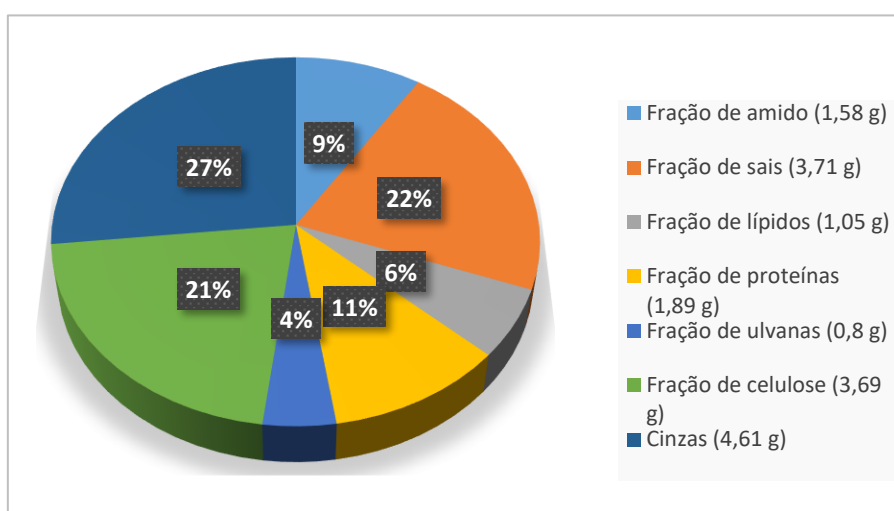


Figura 3-12: Composição final da biomassa recuperada.

O valor de cada uma das frações dos produtos recuperados da biomassa seca inicial foi de 3,72 g em sais; 1,58 g em amido; 1,1 g em lípidos; 0,77 g em ulvanas; 1,89 g em proteína; 3,69 g em celulose e o restante 4,6 g referentes a cinzas presentes.

4.2. Produtos extraídos

4.2.1. Fração de sais

A fração de sais recuperada correspondeu a 22% da biomassa inicialmente utilizada. (Magnusson et al., 2016), em seus estudos com *Ulva ohnoi* obtiveram um rendimento de 29% de sais minerais (uma espécie do mesmo gênero da *Ulva lactuca*) e verificaram a influência da temperatura nesse processo, demonstrando que a composição mineral do sal aumenta do ponto de vista nutricional, pois em temperaturas mais altas (acima de 40 °C) há extração progressiva de ulvanas.

(Gajaria et al., 2017) ao extrair o conteúdo mineral da *Ulva lactuca* por trituração mecânica da biomassa, obteve uma recuperação de 14% da biomassa inicial. Esses autores ao analisarem a composição química desses sais extraídos, verificaram minerais importantes, como iodo, juntamente com Mg, K, Ca, Zn, Mn e Fe.

Neste estudo, não foi possível realizar a caracterização dos sais minerais presentes na fração recuperada, mas conforme a literatura, pode-se dizer que esses produtos em concentrações reguladas podem ser incorporados em alimentos processados, condimentos e produtos de panificação (Magnusson et al., 2016; M. S. Prabhu et al., 2020) A utilização desses sais como bioestimulante e fertilizante em várias safras agrícolas, mostraram eficácia e levaram a redução do uso de fertilizantes químicos (Sharma et al., 2017; Singh et al., 2016).

4.2.2. Fração de amido

A fração de amido recuperada correspondeu a 9% da biomassa inicialmente utilizada. (M. Prabhu et al., 2019; M. S. Prabhu et al., 2020) em seus estudos com a biomassa de *Ulva ohnoi*, obtiveram um rendimento de 41,2%, para biomassa de alga cultivada sobre limitação de nutrientes (principalmente N que induz o acúmulo de reserva de amido no interior de suas células). (M. S. Prabhu et al., 2020), ao cultivarem a biomassa de *Ulva ohnoi* em ambiente marinho natural, o amido recuperado foi de aproximadamente 8%. Em ambos os trabalhos, o amido recuperado apresentou uma pureza acima de 75%.

Neste estudo, não foi possível analisar a pureza do amido recuperado, no entanto, quando observados a pureza apresentados por trabalhos já realizados com espécies pertencentes ao mesmo gênero da alga estudada, os valores encontrados estão próximos a outros amidos utilizados para a alimentação, como de arroz (73-86,8%), batata (78,6%), mandioca (80%) e batata doce (83%) (Bergman & Bao, 2004; Bhat & Riar, 2016; Collado et al., 1999).

Além de aplicações na indústria alimentícia, esse amido é ingrediente importante (seja como amido termoplástico ou em diferentes misturas) para produção de biopolímeros com diversas aplicações, como por exemplo, a produção de bioplásticos (L. Santana & Angela A. Meireles, 2014; Mekonnen et al., 2013). Outra aplicação, destina-se ao

processo de fermentação desse hidrato de carbono para produção de biocombustível, como o bioetanol (Jiang et al., 2016; Milledge et al., 2014).

4.2.3. Fração de lípidos

A fração lipídica recuperada correspondeu a 6% da biomassa inicialmente utilizada. (Gajaria et al., 2017) ao utilizar a biomassa de *Ulva lactuca* em processo de cascata recuperou 2% da massa inicial de biomassa, sendo essa fração composta por ácidos graxos saturados (como o ácido palmítico), ácidos graxos monoinsaturados (oleico e eicosenóico) e ácidos graxos polinsaturados ω -3 e ω -6 (ácido linoleico, ácido linolênico e ácido araquidónico e ácido eicosapentaenóico). O mesmo perfil de ácidos graxos foi encontrado por Ortiz et al. (2006;) e Santos (2017), entretanto com maiores quantidades de PUFA's. Os PUFA's não são sintetizados pelo organismo humano, são importantes na prevenção de doenças cardiovasculares, osteoartrite e diabetes, embora as principais fontes desses ácidos sejam consideradas os peixes e óleo de peixe, as algas e fitoplâncton são as fontes primárias desses ácidos (Mišurcová et al., 2011). As variações subtis nos conteúdos de ácidos graxos na *Ulva lactuca* são atribuíveis às mudanças ambientais e genéticas (Nelson et al., 2002).

No presente estudo, esta fração foi caracterizada referente a quantidade de carotenoides totais presentes, como descrito na secção 3.3.1. Através da equação da curva de calibração (Anexo 1), substituindo o valor de absorbância interpretado no eixo y, consegue-se descobrir a concentração de carotenoides presentes na amostra utilizada (eixo x). Para 0,05 mg da fração de lípidos utilizada, obteve-se 0,01202 mg de carotenoides totais, correspondendo a 0,2404 mg/mg de extrato (Tabela 3-3). Utilizou-se como branco o DMSO.

Tabela 3-3: Carotenoides totais.

Concentração das amostras (0,05 mg/ml)	Amostra A		Amostra B	
Absorbância (A)	0,306	0,315	0,315	0,310
Média da Absorbância (A)	0,311		0,3125	
Média – Branco (A)	0,268		0,2695	
Carotenoides x = y + 0,0032/22,611	0,01197		0,01206	
Média das concentrações de carotenoides (mg/mL)	0,01202			
Desvio Padrão	6,3 * 10 ⁻⁵			

Os carotenoides têm grande importância como suplementos nutricionais ou corantes alimentares, são classificados em dois grandes grupos: os pró-vitâmicos e os inativos. Os pró-vitâmicos são aqueles carotenoides com atividade pró-vitamina A, como o betacaroteno, ou seja, que são convertidos em vitamina A no organismo

humano. Os carotenoides inativos, por sua vez, possuem atividade antioxidante como o caso da luteína, que previne o envelhecimento precoce da pele, contribui para a proteção dos olhos contra os raios ultravioletas, ou são utilizados como corantes na indústria alimentícia (Diniz, 2015).

4.2.4. Fração de ulvanas

A fração de ulvanas recuperada correspondeu a 4% da biomassa inicialmente utilizada. (Robic, Bertrand, et al., 2009), em seus estudos com *Ulva rotundata* utilizando oxalato, obtiveram um rendimento de 9% de ulvanas recuperadas em peso seco, os extratos continham ramnose, ácido glucurônico, sulfato, e açúcares menores como xilose, ácido idurônico, glicose e galactose foram detectadas. O mesmo perfil de açúcares foi encontrado por (Robic, Rondeau-Mouro, et al., 2009), no entanto, ao utilizar partículas menores de algas de *Ulva rotundata*, esses autores recuperaram 27,5% de ulvanas em peso seco. Esse maior rendimento, é melhorado pois as pequenas dimensões das partículas permitiram a exposição de uma grande superfície específica da parede celular ao oxalato e, assim, facilitaram a difusão das ulvanas na solução extratora.

(Gajaria et al., 2017), ao extrair as ulvanas de *Ulva lactuca* com precipitação em isopropanol obtiveram um rendimento de 19,9% de ulvanas recuperada em peso seco.

(Glasson et al., 2017) ao extrair ulvanas de *Ulva ohnoi* utilizando oxalato de sódio obtiveram rendimentos que variaram entre 3,7 – 8,2% de recuperação, no entanto, esses autores constaram que ao usar HCl como solvente de extração, além de maiores rendimentos de ulvanas, estas apresentavam maior grau de pureza e maior concentração de açúcar (62-67% do peso seco em comparação com 37-43% utilizando oxalato). O perfil de açúcares das ulvanas eram constituídas por ramnose, ácidos glucurônicos, ácido idurônicos e xilose.

Ao observar a composição das ulvanas presentes nas espécies do gênero *Ulva* relatadas em literatura, ramnose, ácido glucurônico e ácido idurônico são os principais açúcares constituintes presentes. Esses polissacarídeos têm grande importância nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos por possuírem atividades biológicas, como antioxidantes, antivirais e efeitos anti-inflamatórios (Alves et al., 2013b, 2013a; Glasson et al., 2017; Lahaye & Robic, 2007)

4.2.5. Fração de proteínas

A fração de proteínas recuperada correspondeu a 11% da biomassa inicialmente utilizada. Essa fração foi quantificada através das proteínas totais conforme descrito na seção 3.3.2. Através da equação da curva de calibração (Anexo 2), substituindo o valor da absorbância interpretado no eixo y, consegue-se descobrir a concentração de proteínas totais presentes na amostra utilizada (eixo x). Para 1 mg da fração de proteínas utilizada, obteve-se 0,279 mg de proteínas totais (Tabela 3-4).

Tabela 3-4: Proteínas totais.

Concentração das amostras (1 mg/ml)	Amostra A		Amostra B	
Absorbância (A)	0,35	0,311	0,343	0,345
Média da Absorbância (A)	0,3305		0,344	
Média – Branco (A)	0,2165		0,23	
Concentração (µg/mL) = y= 0,0008 * x + 0,0146	270,61		287,48	
Média das concentrações (µg/mL)			279,05	
Desvio Padrão (µg/mL)			11,93	

(Gajaria et al., 2017) ao realizarem a extração de proteínas da *Ulva lactuca* obtiveram 11% de biomassa recuperada, e demonstraram que os aminoácidos essenciais mais abundantes foram a iso-leucina, seguida por histidina, tirosina, treonina, e aminoácidos não essenciais como a arginina, serina e ácido aspártico. (M. S. Prabhu et al., 2020) obtiveram aproximadamente o mesmo perfil de proteínas na fração recuperada de *Ulva ohnoi*, indicando que a fração de proteína de *Ulva* é um importante produto a ser considerado.

De acordo com as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS), o perfil de aminoácidos da biomassa de *Ulva* favorece sua aplicação na alimentação animal, como rações e em alguns aditivos alimentares humanos (Bikker et al., 2016; Gajaria et al., 2017).

4.2.6. Fração de celulose

A extração da celulose foi a última etapa nesta abordagem integrada de procedimentos; sua fração correspondeu a 21% da biomassa inicial utilizada.

Na literatura, (Gajaria et al., 2017) após extração de ulvanas aplicaram um processo de incubação com hipoclorito de sódio e obtiveram 10,35% da biomassa recuperada de *Ulva lactuca* em celulose. (M. S. Prabhu et al., 2020) ao utilizar o mesmo procedimento de extração deste trabalho obtiveram um grau de pureza de 80,19% para a fração de celulose extraída da *Ulva ohnoi*.

(Jmel et al., 2019), após a extração de ulvanas adicionaram uma etapa de branqueamento com ácido acético para eliminação completa dos pigmentos restantes na fração de celulose de *Ulva lactuca*. Para verificação da pureza dessa celulose extraída, (Jmel et al., 2019) submeteram a uma hidrólise ácida e cromatografia de troca aniônica de alto desempenho acoplada à detecção amperométrica pulsada, e encontraram um índice de cristalinidade de 59%, identificando como principal componente a glicose. Essa celulose extraída continha os mesmos grupos funcionais da celulose comercial AVICEL (82% de índice de cristalinidade).

Como matéria-prima, a celulose extraída tem potenciais aplicações nas indústrias de papel e de produção de bioetanol. Além disso, tem sido considerado um importante polímero para síntese de nanocompósitos, microcristais e produção de bioplástico (de Souza Lima & Borsali, 2004; Mekonnen et al., 2013; Oksman et al., 2016; Trache et al., 2016; Zhou & Berglund, 2015)

Em suma, a Tabela 3-5 demonstra os valores encontrados neste trabalho em comparação com os encontrados na literatura e apresenta as principais aplicações para os produtos recuperados da biorrefinaria de biomassa de *Ulva lactuca*.

Tabela 3-5: Comparação dos produtos recuperados da biorrefinaria de biomassa de *Ulva lactuca* e potenciais aplicações.

Produtos recuperados	Este trabalho	Literatura	Potenciais aplicações
Sais	22%	14% ((Gajaria et al., 2017) 29% (Magnusson et al., 2016)	Culinária e biofertilizantes
Amido	9%	8% (M. S. Prabhu et al., 2020) 23% ((Korzen et al., 2016)	Alimentação, biopolímeros, fermentação para biocombustíveis
Lípidos	6%	2% ((Gajaria et al., 2017)	Suplemento alimentar, corante natural e ração animal
Ulvanas	4%	9% ((Robic, Bertrand, et al., 2009) 3,7-8,2% ((Glasson et al., 2017)	Aplicação biomédica, farmacêutica e nutracêutica
Proteínas	11%	11% ((Gajaria et al., 2017)	Alimentos e rações animais, e aditivos alimentares
Celulose	21%	10,35% (Gajaria et al., 2017)	Biocombustíveis, biomateriais e indústria de papel

CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- 5.1 Conclusões
- 5.2 Sugestões de trabalhos futuros

4 CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

5.1. Conclusões

As macroalgas são uma fonte promissora de biomassa, possuem um enorme potencial como matéria-prima para vários setores industriais. A valorização integral dessa biomassa através de uma abordagem de biorrefinaria representa um processamento mais sustentável, o qual aumenta a competitividade das algas marinhas como matéria-prima renovável e melhora a eficiência desse recurso.

Neste estudo, propôs-se um exemplo de biorrefinaria, com uma sucessão de etapas produtivas para valorização de uma alga verde que produz biomassa em abundância, mas com a crescente poluição dos ambientes marinhos têm causado inúmeros problemas de florações. O presente estudo, demonstrou uma rota de produção integrada em escala laboratorial que extraiu sequencialmente seis produtos diferentes (sal, amido, lípido, ulvanas, proteína e celulose) da mesma biomassa de *Ulva lactuca*.

Foram extraídos um total de 12,69 g de produtos a partir de 17,3 g de biomassa seca, alcançando um rendimento de extração de 73 % da biomassa inicial utilizada (22% de sal, 9% de amido, 6% de lípidos, 4% de ulvanas, 11% de amido e 21% de celulose).

Devido as limitações de tempo e materiais, para a realização desse trabalho a caracterização completa de cada produto não foi realizada, não permitindo demonstrar a pureza de cada fração em relação a sua composição. No entanto, através de trabalhos encontrados em literatura para várias algas do gênero *Ulva* e também para a espécie utilizada neste estudo, pode-se dizer que os produtos recuperados da *Ulva lactuca* tem capacidade para serem utilizados na fabricação de produtos farmacêuticos, nutracêuticos, suplementos alimentares, rações para aquicultura, fertilizantes, biopolímeros, bioetanol e biomateriais, permitindo valorizar economicamente um biorrecurso ainda pouco explorado.

O exemplo de biorrefinaria relatado neste estudo não só permite obter maior valorização da biomassa algal, como também fornece amplas oportunidades para a realização de estudos adicionais de aperfeiçoamento e otimização dessas etapas produtivas para o desenvolvimento de novos produtos e uso de diferentes espécies.

O conceito de biorrefinaria garante o aproveitamento máximo da biomassa aquática, reduz o custo de produção e contribui para uma economia de base biológica circular. Entretanto, as principais barreiras para o uso promissor da biomassa aquática em uma biorrefinaria são os custos das tecnologias envolvidas nos processos produtivos e as influências sazonais na produtividade dessa matéria-prima.

Com o avanço da biotecnologia e de projetos de investigações voltados para o desenvolvimento da economia azul, grandes descobertas em escala piloto estão permitindo o uso eficiente e sustentável das algas, e uma vez totalmente otimizados, a abordagem de refino de macroalgas têm o potencial de fortalecer economicamente uma série de setores industriais, ao mesmo tempo que ajudam a bioeconomia circular a mitigar as mudanças climáticas.

5.2. Sugestões de trabalhos futuros

Este trabalho apresentou como maior limitação o tempo e a falta de alguns materiais específicos para a realização dos procedimentos. Na desintegração da biomassa, o processo foi muito moroso devido a baixa potência do homogeneizador utilizado. Na extração de amido, o filtro utilizado apresentava abertura superior ao pretendido, interferindo na eficiência da filtração. Na extração de lípidos, o processo demorou cerca de 16 horas sendo necessário à sua concretização durante a madrugada. Na extração de ulvanas e proteínas as membranas de diálise utilizadas tinham poros maiores do que a literatura exigia (8 kDa MWCO), diminuindo a eficiência do processo de purificação.

Após a realização deste trabalho e mediante as limitações verificadas, sugere-se:

- Realizar outro método de desintegração da biomassa, como por exemplo, liquidificador industrial;
- Caracterizar qualitativamente e quantitativamente todas frações de acordo com seu potencial;
- Utilizar etanol absoluto 99,6% para uma remoção completa dos pigmentos da biomassa;
- Realizar algum processo de branqueamento na fração de celulose para eliminação de cinzas ou pigmentos restantes;
- Possibilidade de utilizar outras espécies de macroalgas verdes como fonte de biomassa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abirami, R. G., & Kowsalya, S. (2011). Nutrient and nutraceutical potentials of seaweed biomass *Ulva lactuca* and *Kappaphycus alvarezii*. *Agricultural Science and Technology*, 5(1), 1–7.
- Abreu, M. H., Pereira, R., Yarish, C., Buschmann, A. H., & Sousa-Pinto, I. (2011). IMTA with *Gracilaria vermiculophylla*: Productivity and nutrient removal performance of the seaweed in a land-based pilot scale system. *Aquaculture*, 312(1–4), 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.12.036>
- Adeleke, A. A., Ikubanni, P. P., Orhadahwe, T. A., Christopher, C. T., Akano, J. M., Agboola, O. O., Adegoke, S. O., Balogun, A. O., & Ibikunle, R. A. (2021). Sustainability of multifaceted usage of biomass: A review. *Heliyon*, 7(9), e08025. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08025>
- Akaraonye, E., Keshavarz, T., & Roy, I. (2010). Production of polyhydroxyalkanoates: The future green materials of choice. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85(6), 732–743. <https://doi.org/10.1002/jctb.2392>
- Albarelli, J. Q., Santos, D. T., & Meireles, M. A. A. (2018). Thermo-economic evaluation of a new approach to extract sugarcane wax integrated to a first and second generation biorefinery. *Biomass and Bioenergy*, 119(September), 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.09.018>
- Alves, A., Sousa, R. A., & Reis, R. L. (2013a). A practical perspective on ulvan extracted from green algae. *Journal of Applied Phycology*, 25(2), 407–424. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9875-4>
- Alves, A., Sousa, R. A., & Reis, R. L. (2013b). In vitro cytotoxicity assessment of ulvan, a polysaccharide extracted from green algae. *Phytotherapy Research*, 27(8), 1143–1148. <https://doi.org/10.1002/ptr.4843>
- Alvim, J. C., Alvim, F. A. L. S., Sales, V. H. G., Oliveira, E. M. de, Sales, P. V. G., & Costa, A. C. R. (2014). Biorefineries: concepts, classification, raw materials and products. *Journal of Bioenergy and Food Science*, 1(3), 61–77. <https://doi.org/10.18067/JBFS.V1I3.22>
- Alzate, C. A. C. (2018). *Biorefineries*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315114088>
- Araújo, R., Vázquez Calderón, F., Sánchez López, J., Azevedo, I. C., Bruhn, A., Fluch, S., Garcia Tasende, M., Ghaderiardakani, F., Ilmjärv, T., Laurans, M., mac Monagail, M., Mangini, S., Peteiro, C., Rebours, C., Stefansson, T., & Ullmann, J. (2021). Current Status of the Algae Production Industry in Europe: An Emerging Sector of the Blue

- Bioeconomy. *Frontiers in Marine Science*, 7(January), 1–24. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.626389>
- Arias Zabala, M., Henao Navarrete, L., & Castrillón Gutiérrez, Y. (2009). Lactic acid production by fermentation of coffee mucilage with *Lactobacillus bulgaricus* NRRL-B548. *Dyna*, 76(158), 147–153.
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J. A., Siddiqui, M. W., Dávila-Aviña, J. E., & González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), 1866–1874. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>
- Baghel, R. S., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2014). Characterization of agarophytic seaweeds from the biorefinery context. *Bioresource Technology*, 159, 280–285. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.083>
- Balina, K., Romagnoli, F., & Blumberga, D. (2017). Seaweed biorefinery concept for sustainable use of marine resources. *Energy Procedia*, 128, 504–511. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.09.067>
- Barbier, M., Araújo, R., Rebours, C., Jacquemin, B., Holdt, S. L., & Charrier, B. (2020). Development and objectives of the PHYCOMORPH European Guidelines for the Sustainable Aquaculture of Seaweeds (PEGASUS). *Botanica Marina*, 63(1), 5–16. <https://doi.org/10.1515/bot-2019-0051>
- Barbot, Y. N., Al-Ghaili, H., & Benz, R. (2016). A review on the valorization of macroalgal wastes for biomethane production. *Marine Drugs*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/md14060120>
- Bastos, E. de O. (2019). *DESENVOLVIMENTO DE BASES BIOTECNOLÓGICAS PARA UTILIZAÇÃO DA ALGA VERDE *Ulva ohnoi* (Chlorophyta)*.
- Bell, J., Paula, L., Dodd, T., Németh, S., Nanou, C., Mega, V., & Campos, P. (2018). EU ambition to build the world's leading bioeconomy—Uncertain times demand innovative and sustainable solutions. *New Biotechnology*, 40, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.06.010>
- Bergman, C. J., & Bao, J. (2004). The functionality of rice starch. In *Starch in Food: Structure, Function and Applications*. <https://doi.org/10.1016/B978-1-85573-731-0.50013-X>
- Bhat, F. M., & Riar, C. S. (2016). Effect of amylose, particle size & morphology on the functionality of starches of traditional rice cultivars. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.078>
- Bikker, P., van Krimpen, M. M., van Wikselaar, P., Houweling-Tan, B., Scaccia, N., van Hal, J. W., Huijgen, W. J. J., Cone, J. W., & López-Contreras, A. M. (2016). Biorefinery of the green seaweed *Ulva lactuca* to produce animal feed, chemicals and biofuels.

- Journal of Applied Phycology*, 28(6), 3511–3525. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0842-3>
- Bleakley, S., & Hayes, M. (2017). Algal proteins: Extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6(5), 1–34. <https://doi.org/10.3390/foods6050033>
- Blok, K., Beer, J. de, & Patel, M. K. (2002). *Clean technologies in the materials sector. January*.
- Borges, F. C. (2010). *Proposta de Um Modelo Conceitual de Biorrefinaria Com Estrutura Descentralizada*.
- Bourgougnon, N., Burlot, A. S., & Jacquin, A. G. (2021). Algae for global sustainability? In *Advances in Botanical Research* (1st ed., Vol. 100). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2021.01.003>
- Bridgwater, A. v., & Peacocke, G. V. C. (2000). Fast pyrolysis processes for biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 4(1), 1–73. [https://doi.org/10.1016/S1364-0321\(99\)00007-6](https://doi.org/10.1016/S1364-0321(99)00007-6)
- Bruhn, A., Dahl, J., Nielsen, H. B., Nikolaisen, L., Rasmussen, M. B., Markager, S., Olesen, B., Arias, C., & Jensen, P. D. (2011). Bioenergy potential of *Ulva lactuca*: Biomass yield, methane production and combustion. *Bioresource Technology*, 102(3), 2595–2604. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.010>
- Bruins, M. E., & Sanders, J. P. M. (2012). *Small-scale processing of biomass for biorefinery*. <https://doi.org/10.1002/bbb1319>
- Budzianowski, W. M. (2017). High-value low-volume bioproducts coupled to bioenergies with potential to enhance business development of sustainable biorefineries. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 70(December 2015), 793–804. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.260>
- Castilho, L. R., Mitchell, D. A., & Freire, D. M. G. (2009). Production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from waste materials and by-products by submerged and solid-state fermentation. *Bioresource Technology*, 100(23), 5996–6009. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.088>
- Cesário, M. T., da Fonseca, M. M. R., Marques, M. M., & de Almeida, M. C. M. D. (2018). Marine algal carbohydrates as carbon sources for the production of biochemicals and biomaterials. *Biotechnology Advances*, 36(3), 798–817. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.02.006>
- Chaudhary, N., Ngadi, M. O., Simpson, B. K., & Kassama, L. S. (2011). Biosynthesis of Ethanol and Hydrogen by Glycerol Fermentation Using *Escherichia coli*. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 01(03), 83–89. <https://doi.org/10.4236/aces.2011.13014>
- Cherubini, F. (2010). The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy Conversion and Management*, 51(7), 1412–1421. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.01.015>

- Cherubini, F., Wellisch, M., & Willke, T. (2009). *Toward a common classification approach for biorefinery systems*. 534–546. <https://doi.org/10.1002/bbb>
- Collado, L. S., Mabesa, R. C., Corke, H., & Ban, L. (1999). *Genetic Variation in the Physical Properties of Sweet Potato Starch*.
- Connan, S., Goulard, F., Stiger, V., Deslandes, E., & Gall, E. A. (2004). Interspecific and temporal variation in phlorotannin levels in an assemblage of brown algae. *Botanica Marina*, 47(5), 410–416. <https://doi.org/10.1515/BOT.2004.057>
- Conteratto, C., Artuzo, F. D., Benedetti Santos, O. I., & Talamini, E. (2021). Biorefinery: A comprehensive concept for the sociotechnical transition toward bioeconomy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 151(May). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111527>
- Copertino, M. D. S., Tormena, T., & Seeliger, U. (2009). Biofiltering efficiency, uptake and assimilation rates of *Ulva clathrata* (Roth) J. Agardh (Clorophyceae) cultivated in shrimp aquaculture waste water. *Journal of Applied Phycology*, 21(1), 31–45. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9357-x>
- Costa Filho, D. v., Silva, A., Silva, P., & Sousa, F. (2017). Aproveitamento de resíduos agroindustriais na elaboração de subprodutos. *II Congresso Internacional Das Ciências Agrárias COINTER - PDVAgro*, 8. <https://cointer-pdvagro.com.br/wp-content/uploads/2018/02/APROVEITAMENTO-DE-RESÍDUOS-AGROINDUSTRIAIS-NA-ELABORAÇÃO-DE-SUBPRODUTOS.pdf>
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1–2), 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.011>
- Cunha, L., & Grenha, A. (2016). Sulfated seaweed polysaccharides as multifunctional materials in drug delivery applications. *Marine Drugs*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/md14030042>
- Dahiya, S., Kumar, A. N., Shanthi Sravan, J., Chatterjee, S., Sarkar, O., & Mohan, S. V. (2018). Food waste biorefinery: Sustainable strategy for circular bioeconomy. *Bioresource Technology*, 248(May 2017), 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.176>
- de Souza Lima, M. M., & Borsali, R. (2004). Rodlike cellulose microcrystals: Structure, properties, and applications. *Macromolecular Rapid Communications*, 25(7), 771–787. <https://doi.org/10.1002/marc.200300268>
- Demirbaş, A. (2003). Biodiesel fuels from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical alcohol transesterifications and other methods: A survey. *Energy Conversion and Management*, 44(13), 2093–2109. [https://doi.org/10.1016/S0196-8904\(02\)00234-0](https://doi.org/10.1016/S0196-8904(02)00234-0)
- Demirbas, A. (2006). Green Energy and Technology. In *Green Energy and Technology*. <https://doi.org/10.2174/97816080528511060101>

- Diniz, S. N. da C. (2015). *Vitaminas antioxidantes, Carotenóides , Polifenóis e Envelhecimento*. 1–46.
- Dong, C., Wang, Y., Wang, H., Lin, C. S. K., Hsu, H. Y., & Leu, S. Y. (2019). New generation urban biorefinery toward complete utilization of waste derived lignocellulosic biomass for biofuels and value-added products. *Energy Procedia*, 158, 918–925. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.01.231>
- Doumeizel, V., Aass, K., McNevin, A., Cousteau, A., Yap, A. Y., Cai, J., Cottier-Cook, E. J., Giercksky, E., Chen, H., Skjermo, J., Teleki, K., Lourenco, N., Potin, P., Brummett, R., Jan, S., Hansen, S., & Gronbrekk, W. (2020). Seaweed Revolution: A manifesto for a sustainable future. *Lloyd's Register Foundation*, 1–16. <https://ungc-communications-assets.s3.amazonaws.com/docs/publications/The-Seaweed-Manifesto.pdf>
- Eggersdorfer, M., Meyer, J., & Eckes, P. (1992). Use of renewable resources for non-food materials. *FEMS Microbiology Letters*, 103(2–4), 355–365. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05858.x>
- FAO. (2018). The global status of seaweed production, trade and utilization. In *FAO Globefish Research Programme* (Vol. 124).
- FAO. (2020). *LA SITUATION MONDIALE DES PECHES ET DE L'AQUACULTURE*.
- Filote, C., Santos, S. C. R., Popa, V. I., Botelho, C. M. S., & Volf, I. (2021). Biorefinery of marine macroalgae into high-tech bioproducts: a review. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 19, Issue 2). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01124-4>
- Flemsæter, F. (2020). Regulating marine bioprospecting. Exploring the establishment of new regulatory regimes in the blue bioeconomy. *Ocean and Coastal Management*, 194(June), 105207. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2020.105207>
- Fleurence, J. (2004). Seaweed proteins. In *Proteins in Food Processing*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781855738379.1.197>
- Fleurence, J., Moranchais, M., & Dumay, J. (2018). Seaweed proteins. *Proteins in Food Processing: Second Edition*, 10, 245–262. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00010-3>
- Gajaria, T. K., Suthar, P., Baghel, R. S., Balar, N. B., Sharnagat, P., Mantri, V. A., & Reddy, C. R. K. (2017). Integration of protein extraction with a stream of byproducts from marine macroalgae: A model forms the basis for marine bioeconomy. *Bioresour Technology*, 243, 867–873. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.149>
- Ge, L., Wang, P., & Mou, H. (2011). Study on saccharification techniques of seaweed wastes for the transformation of ethanol. *Renewable Energy*, 36(1), 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2010.06.001>
- Ghimire, A. (2016). Dark fermentative biohydrogen production from organic waste and application of by-products in a biorefinery Anish Ghimire To cite this version : HAL

- Id : tel-01404689 Biofuels Waste Treatment Waste Biomass based Biorefinery Energy and Sustainability Bio. *Thesis*.
- Gírio, F. (2019). Economia do Desenvolvimento. *CULTIVAR Cadernos de Análise e Prospetiva*, 60–65. <http://www.wook.pt/ficha/economia-do-desenvolvimento-sustentavel/a/id/2694891>
- Gladis, A., Bondesson, P. M., Galbe, M., & Zacchi, G. (2015). Influence of different SSF conditions on ethanol production from corn stover at high solids loadings. *Energy Science and Engineering*, 3(5), 481–489. <https://doi.org/10.1002/ese3.83>
- Glasson, C. R. K., Sims, I. M., Carnachan, S. M., de Nys, R., & Magnusson, M. (2017). A cascading biorefinery process targeting sulfated polysaccharides (ulvan) from *Ulva ohnoi*. *Algal Research*, 27(May), 383–391. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.07.001>
- Goh, C. S., & Lee, K. T. (2010). A visionary and conceptual macroalgae-based third-generation bioethanol (TGB) biorefinery in Sabah, Malaysia as an underlay for renewable and sustainable development. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 842–848. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.001>
- Gómez-Guzmán, M., Rodríguez-Nogales, A., Algieri, F., & Gálvez, J. (2018). Potential role of seaweed polyphenols in cardiovascular-associated disorders. *Marine Drugs*, 16(8), 1–21. <https://doi.org/10.3390/md16080250>
- Gonçalves, F. A., Ruiz, H. A., Nogueira, C. D. C., Santos, E. S. dos, Teixeira, J. A., & de Macedo, G. R. (2014). Comparison of delignified coconuts waste and cactus for fuel-ethanol production by the simultaneous and semi-simultaneous saccharification and fermentation strategies. *Fuel*, 131, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.04.021>
- González, A. A. (2015). *Design and assessment of high technology processes for enhancing the viability of agribusiness based on the sustainable use of biomass in Amazonas*.
- Gutiérrez, L. F., Sánchez, Ó. J., & Cardona, C. A. (2009). Process integration possibilities for biodiesel production from palm oil using ethanol obtained from lignocellulosic residues of oil palm industry. *Bioresource Technology*, 100(3), 1227–1237. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.001>
- Hamelinck, C. N., van Hooijdonk, G., & Faaij, A. P. C. (2005). Ethanol from lignocellulosic biomass: Techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass and Bioenergy*, 28(4), 384–410. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2004.09.002>
- Harnedy, P. A., & Fitzgerald, R. J. (2011). Bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalgae. *Journal of Phycology*, 47(2), 218–232. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.00969.x>
- Hua, D. R., Wu, Y. L., Liu, Y. F., Chen, Y., Yang, M. de, Lu, X. N., & Li, J. (2016). Preparation of furfural and reaction kinetics of xylose dehydration to furfural in high-

- temperature water. *Petroleum Science*, 13(1), 167–172.
<https://doi.org/10.1007/s12182-015-0069-y>
- Husemann, E. (1968). Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides. Von E. Percival und R. H. McDowell. Academic Press, London-New York 1967. 1. Aufl., XII, 219 S., mehrere Abb. u. Tab., geb. 60s. *Angewandte Chemie*, 80(20), 856–856.
<https://doi.org/10.1002/ange.19680802022>
- Iwai, K. (2008). Antidiabetic and antioxidant effects of polyphenols in brown alga *Ecklonia stolonifera* in genetically diabetic KK-Ay mice. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(4), 163–169. <https://doi.org/10.1007/s11130-008-0098-4>
- J. G. C. Gomez, B. S. Méndez, P. I. Nikel, M. J. Pettinari, M. A. P. And, A., & Silva, L. F. (2012). *Making Green Polymers Even Greener: Towards Sustainable Production of Polyhydroxyalkanoates from Agroindustrial By-Products*.
- Jiang, R., Ingle, K. N., & Golberg, A. (2016). Macroalgae (seaweed) for liquid transportation biofuel production: What is next? *Algal Research*, 14, 48–57.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.01.001>
- Jmel, M. A., Anders, N., ben Messaoud, G., Marzouki, M. N., Spiess, A., & Smaali, I. (2019). The stranded macroalga *Ulva lactuca* as a new alternative source of cellulose: Extraction, physicochemical and rheological characterization. *Journal of Cleaner Production*, 234, 1421–1427.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.225>
- John, R. P., Anisha, G. S., Nampoothiri, K. M., & Pandey, A. (2011). Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology*, 102(1), 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.139>
- Jol, C. N., Neiss, T. G., Penninkhof, B., Rudolph, B., & Ruiter, G. A. de. (1999). A Novel High-Performance Anion-Exchange Chromatographic Method for the Analysis of Carrageenans and Agars Containing 3, 6-Anhydrogalactose. 222, 213–222.
- Jung, K. A., Lim, S. R., Kim, Y., & Park, J. M. (2013). Potentials of macroalgae as feedstocks for biorefinery. *Bioresource Technology*, 135, 182–190.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.025>
- Júnior, S. V. (2020). Aproveitamento de resíduos agroindustriais - Uma abordagem sustentável. *Embrapa Agroenergia*, 26.
- Kajiwara, T., Matsui, K., Akakabe, Y., Murakawa, T., & Arai, C. (2006). Antimicrobial browning-inhibitory effect of flavor compounds in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 18(3–5), 413–422. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9046-6>
- Kamm, B., Gruber, P. R., & Kamm, M. (2016). Biorefineries-Industrial Processes and Products. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 1–38.
https://doi.org/10.1002/14356007.l04_l01.pub2
- Kang, M. C., Ahn, G., Yang, X., Kim, K. N., Kang, S. M., Lee, S. H., Ko, S. C., Ko, J. Y., Kim, D., Kim, Y. T., Jee, Y., Park, S. J., & Jeon, Y. J. (2012). Hepatoprotective effects of

- dieckol-rich phlorotannins from *Ecklonia cava*, a brown seaweed, against ethanol induced liver damage in BALB/c mice. *Food and Chemical Toxicology*, 50(6), 1986–1991. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.03.078>
- Khan, M. N. A., Cho, J. Y., Lee, M. C., Kang, J. Y., Nam, G. P., Fujii, H., & Hong, Y. K. (2007). Isolation of two anti-inflammatory and one pro-inflammatory polyunsaturated fatty acids from the brown seaweed *Undaria pinnatifida*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(17), 6984–6988. <https://doi.org/10.1021/jf071791s>
- Khoo, C. G., Dasan, Y. K., Lam, M. K., & Lee, K. T. (2019). Algae biorefinery: Review on a broad spectrum of downstream processes and products. *Bioresource Technology*, 292(August), 121964. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121964>
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H. P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie - International Edition*, 44(22), 3358–3393. <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>
- Koller, M., Maršálek, L., de Sousa Dias, M. M., & Braunegg, G. (2017). Producing microbial polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolyesters in a sustainable manner. *New Biotechnology*, 37, 24–38. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.05.001>
- Kong, F., Mao, Y., Cui, F., Zhang, X., & Gao, Z. (2011). Morphology and molecular identification of *Ulva* forming green tides in Qingdao, China. *Journal of Ocean University of China*, 10(1), 73–79. <https://doi.org/10.1007/s11802-011-1728-2>
- Korzen, L., Abelson, A., & Israel, A. (2016). Growth, protein and carbohydrate contents in *Ulva rigida* and *Gracilaria bursa-pastoris* integrated with an offshore fish farm. *Journal of Applied Phycology*, 28(3), 1835–1845. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0691-5>
- Kositkanawuth, K., Bhatt, A., Sattler, M., & Dennis, B. (2017). Renewable Energy from Waste: Investigation of Co-pyrolysis between *Sargassum* Macroalgae and Polystyrene. *Energy and Fuels*, 31(5), 5088–5096. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b03397>
- Kostas, E. T., Adams, J. M. M., Ruiz, H. A., Durán-Jiménez, G., & Lye, G. J. (2021a). Macroalgal biorefinery concepts for the circular bioeconomy: A review on biotechnological developments and future perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 151(March). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111553>
- Kostas, E. T., Adams, J. M. M., Ruiz, H. A., Durán-Jiménez, G., & Lye, G. J. (2021b). Macroalgal biorefinery concepts for the circular bioeconomy: A review on biotechnological developments and future perspectives. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 151). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111553>
- Kostas, E. T., White, D. A., Du, C., & Cook, D. J. (2016). Selection of yeast strains for bioethanol production from UK seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 28(2), 1427–1441. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0633-2>

- Kraan, S. (2013). Mass-cultivation of carbohydrate rich macroalgae, a possible solution for sustainable biofuel production. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 18(1), 27–46. <https://doi.org/10.1007/s11027-010-9275-5>
- Krause-Jensen, D., Lavery, P., Serrano, O., Marba, N., Masque, P., & Duarte, C. M. (2018). Sequestration of macroalgal carbon: The elephant in the Blue Carbon room. *Biology Letters*, 14(6). <https://doi.org/10.1098/rsbl.2018.0236>
- Kumar, S., Gupta, R., Kumar, G., Sahoo, D., & Kuhad, R. C. (2013). Bioethanol production from *Gracilaria verrucosa*, a red alga, in a biorefinery approach. *Bioresource Technology*, 135, 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.120>
- Kumari, P., Bijoy, A. J., Mantri, V. A., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2013). Fatty acid profiling of tropical marine macroalgae: An analysis from chemotaxonomic and nutritional perspectives. *Phytochemistry*, 86, 44–56. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.015>
- Kumari, P., Kumar, M., Gupta, V., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2010). Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. *Food Chemistry*, 120(3), 749–757. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.006>
- L. Santana, Á., & Angela A. Meireles, M. (2014). New Starches are the Trend for Industry Applications: A Review. *Food and Public Health*, 4(5), 229–241. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20140405.04>
- Lahaye, M., & Robic, A. (2007). Structure and function properties of Ulvan, a polysaccharide from green seaweeds. *Biomacromolecules*, 8(6), 1765–1774. <https://doi.org/10.1021/bm061185q>
- Laurens, L. M. L., Chen-Glasser, M., & McMillan, J. D. (2017). A perspective on renewable bioenergy from photosynthetic algae as feedstock for biofuels and bioproducts. *Algal Research*, 24(April), 261–264. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.002>
- Liu, K., Atiyeh, H. K., Stevenson, B. S., Tanner, R. S., Wilkins, M. R., & Huhnke, R. L. (2014). Continuous syngas fermentation for the production of ethanol, n-propanol and n-butanol. *Bioresource Technology*, 151, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.059>
- Lopes, G., Sousa, C., Silva, L. R., Pinto, E., Andrade, P. B., Bernardo, J., Mouga, T., & Valentão, P. (2012). Can phlorotannins purified extracts constitute a novel pharmacological alternative for microbial infections with associated inflammatory conditions? *PLoS ONE*, 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031145>
- Lucarini, M., Durazzo, A., Romani, A., Campo, M., Lombardi-Boccia, G., & Cecchini, F. (2018). Bio-based compounds from grape seeds: A biorefinery approach. *Molecules*, 23(8), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules23081888>
- Magnusson, M., Carl, C., Mata, L., de Nys, R., & Paul, N. A. (2016). Seaweed salt from *Ulva*: A novel first step in a cascading biorefinery model. *Algal Research*, 16, 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.018>

- Mahadevan, K. (2015). Seaweeds: A sustainable food source. In *Seaweed Sustainability: Food and Non-Food Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418697-2.00013-1>
- Maina, S., Kachrimanidou, V., & Koutinas, A. (2017). A roadmap towards a circular and sustainable bioeconomy through waste valorization. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 8, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2017.07.007>
- Manivasagan, P., & Oh, J. (2016). Marine polysaccharide-based nanomaterials as a novel source of nanobiotechnological applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 315–327. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.081>
- Marinho, G. S., Alvarado-Morales, M., & Angelidaki, I. (2016). Valorization of macroalga *Saccharina latissima* as novel feedstock for fermentation-based succinic acid production in a biorefinery approach and economic aspects. *Algal Research*, 16, 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.02.023>
- Marzo, C., Díaz, A. B., Caro, I., & Blandino, A. (2019). Valorization of agro-industrial wastes to produce hydrolytic enzymes by fungal solid-state fermentation. *Waste Management and Research*, 37(2), 149–156. <https://doi.org/10.1177/0734242X18798699>
- McDermid, K. J., & Stuercke, B. (2003). Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 15(6), 513–524. <https://doi.org/10.1023/B:JAPH.00000004345.31686.7f>
- Mekonnen, T., Mussone, P., Khalil, H., & Bressler, D. (2013). Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. *Journal of Materials Chemistry A*, 1(43), 13379–13398. <https://doi.org/10.1039/c3ta12555f>
- Mhatre, A., Gore, S., Mhatre, A., Trivedi, N., Sharma, M., Pandit, R., Anil, A., & Lali, A. (2019). Effect of multiple product extractions on bio-methane potential of marine macrophytic green alga *Ulva lactuca*. *Renewable Energy*, 132, 742–751. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.08.012>
- Michalak, I. (2018). Experimental processing of seaweeds for biofuels. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Energy and Environment*, 7(3), 1–25. <https://doi.org/10.1002/wene.288>
- Milledge, J. J., Smith, B., Dyer, P. W., & Harvey, P. (2014). Macroalgae-derived biofuel: A review of methods of energy extraction from seaweed biomass. *Energies*, 7(11), 7194–7222. <https://doi.org/10.3390/en7117194>
- Mišurcová, L., Ambrožová, J., & Samek, D. (2011). Seaweed lipids as nutraceuticals. *Advances in Food and Nutrition Research*, 64, 339–355. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387669-0.00027-2>
- Mitra, R., Xu, T., Xiang, H., & Han, J. (2020). Current developments on polyhydroxyalkanoates synthesis by using halophiles as a promising cell factory. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 1–30. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01342-z>

- Moncada, J., Tamayo, J. A., & Cardona, C. A. (2014). Integrating first, second, and third generation biorefineries: Incorporating microalgae into the sugarcane biorefinery. *Chemical Engineering Science*, 118, 126–140. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2014.07.035>
- Morais, T., Inácio, A., Coutinho, T., Ministro, M., Cotas, J., Pereira, L., & Bahcevandziev, K. (2020). Seaweed potential in the animal feed: A review. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(8), 1–24. <https://doi.org/10.3390/JMSE8080559>
- Morán-Santibañez, K., Peña-Hernández, M. A., Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Skouta, R., Vasquez, A. H., Rodríguez-Padilla, C., & Trejo-Avila, L. M. (2018). Virucidal and synergistic activity of polyphenol-rich extracts of seaweeds against measles virus. *Viruses*, 10(9), 1–14. <https://doi.org/10.3390/v10090465>
- Msuya, F. E., & Neori, A. (2008). Effect of water aeration and nutrient load level on biomass yield, N uptake and protein content of the seaweed *Ulva lactuca* cultured in seawater tanks. *Journal of Applied Phycology*, 20(6), 1021–1031. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9300-6>
- Murthy, G. S. (2019). for Biorefineries. In *Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and Gaseous biofuels* (2nd ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816856-1.00003-8>
- Murugan, A. C., Vallal, D., Karim, M. R., Govindan, N., Yusoff, M. B. M., & Rahman, M. M. (2015). In vitro antiradical and neuroprotective activity of polyphenolic extract from marine algae *Padina australis* H. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(8), 355–362.
- Nali, E. C., Ribeiro, L. B. N. M., & Hora, A. B. (2016). Biorrefinaria integrada à indústria de celulose no Brasil: oportunidade ou necessidade? *Papel e Celulose*, 43, 257–294.
- Nelson, M. M., Phleger, C. F., & Nichols, P. D. (2002). Seasonal lipid composition in macroalgae of the northeastern Pacific Ocean. *Botanica Marina*, 45(1), 58–65. <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.007>
- Ng, H. M., Sin, L. T., Tee, T. T., Bee, S. T., Hui, D., Low, C. Y., & Rahmat, A. R. (2015). Extraction of cellulose nanocrystals from plant sources for application as reinforcing agent in polymers. *Composites Part B: Engineering*, 75, 176–200. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2015.01.008>
- Oksman, K., Aitomäki, Y., Mathew, A. P., Siqueira, G., Zhou, Q., Butylina, S., Tanpichai, S., Zhou, X., & Hooshmand, S. (2016). Review of the recent developments in cellulose nanocomposite processing. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 83, 2–18. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2015.10.041>
- Pe uela, A., Robledo, D., Bourgougnon, N., Bedoux, G., Hernández-Nú ez, E., & Freile-Pelegrín, Y. (2018). Environmentally friendly valorization of solieria filiformis (Gigartinales, rhodophyta) from IMTA using a biorefinery concept. *Marine Drugs*, 16(12). <https://doi.org/10.3390/md16120487>

- Pilatti, F. K. (2016). *Pilatti.2016.pdf*. Universidade Federal de Santa Catari.
- Planeamento, M. do. (2021). – *Recuperar Portugal, Construindo o Futuro* (Issue 069, pp. 0–1).
- Prabhu, M., Chemodanov, A., Gottlieb, R., Kazir, M., Nahor, O., Gozin, M., Israel, A., Livney, Y. D., & Golberg, A. (2019). Starch from the sea: The green macroalga *Ulva ohnoi* as a potential source for sustainable starch production in the marine biorefinery. *Algal Research*, 37(October 2018), 215–227. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.11.007>
- Prabhu, M. S., Israel, A., Palatnik, R. R., Zilberman, D., & Golberg, A. (2020). Integrated biorefinery process for sustainable fractionation of *Ulva ohnoi* (Chlorophyta): process optimization and revenue analysis. *Journal of Applied Phycology*, 32(4), 2271–2282. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02044-0>
- Quintero, J. A., Moncada, J., & Cardona, C. A. (2013). Techno-economic analysis of bioethanol production from lignocellulosic residues in Colombia: A process simulation approach. *Bioresource Technology*, 139, 300–307. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.048>
- Ramos, D. A. de O. (2019). *Hidrogenação de macroalgas para a produção de bio-combustíveis líquidos*. UNIVERSIDADE DE LISBOA.
- Ramos, Má. V., Monteiro, A. C. O., Moreira, R. A., & Carvalho, A. D. Fá. A. F. U. (2000). Amino acid composition of some Brazilian seaweed species. *Journal of Food Biochemistry*, 24(1), 33–39. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2000.tb00041.x>
- Rehm, B. H. A. (2010). Bacterial polymers: Biosynthesis, modifications and applications. *Nature Reviews Microbiology*, 8(8), 578–592. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2354>
- Rezaian, J., & Cheremisinoff, N. P. (2005). Gasification technologies: A primer for engineers and scientists. In *Gasification Technologies: A Primer for Engineers and Scientists*.
- Robic, A., Bertrand, D., Sassi, J. F., Lerat, Y., & Lahaye, M. (2009). Determination of the chemical composition of ulvan, a cell wall polysaccharide from *Ulva* spp. (Ulvales, Chlorophyta) by FT-IR and chemometrics. *Journal of Applied Phycology*, 21(4), 451–456. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9390-9>
- Robic, A., Rondeau-Mouro, C., Sassi, J. F., Lerat, Y., & Lahaye, M. (2009). Structure and interactions of ulvan in the cell wall of the marine green algae *Ulva rotundata* (Ulvales, Chlorophyceae). *Carbohydrate Polymers*, 77(2), 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.12.023>
- Robin, A., Sack, M., Israel, A., Frey, W., Müller, G., & Golberg, A. (2018). Deashing macroalgae biomass by pulsed electric field treatment. *Bioresource Technology*, 255(January), 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.089>

- Rodrigues, D., Freitas, A. C., Pereira, L., Rocha-Santos, T. A. P., Vasconcelos, M. W., Roriz, M., Rodríguez-Alcalá, L. M., Gomes, A. M. P., & Duarte, A. C. (2015). Chemical composition of red, brown and green macroalgae from Buarcos bay in Central West Coast of Portugal. *Food Chemistry*, 183, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.057>
- Sadhukhan, J., Martinez-Hernandez, E., Murphy, R. J., Ng, D. K. S., Hassim, M. H., Siew Ng, K., Yoke Kin, W., Jaye, I. F. M., Leung Pah Hang, M. Y., & Andiappan, V. (2018). Role of bioenergy, biorefinery and bioeconomy in sustainable development: Strategic pathways for Malaysia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 81(April 2017), 1966–1987. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.06.007>
- Safavi, S. V., Kenari, A. A., Tabarsa, M., & Esmaeili, M. (2019). Effect of sulfated polysaccharides extracted from marine macroalgae (*Ulva intestinalis* and *Gracilariopsis persica*) on growth performance, fatty acid profile, and immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Phycology*, 31(6), 4021–4035. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01902-w>
- Sambusiti, C., Bellucci, M., Zabaniotou, A., Beneduce, L., & Monlau, F. (2015). Algae as promising feedstocks for fermentative biohydrogen production according to a biorefinery approach: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 44, 20–36. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.12.013>
- Santiago, B. L. S., & Rodrigues, F. D. Á. (2017). Processamento De Biomassa Lignocelulósica Para Produção De Etanol: Uma Revisão. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 3(7), 1011–1022. <https://doi.org/10.18540/jcecvl3iss7pp1011-1022>
- Santos, F. de J. C. (2017). *Macroalgas Verdes Produzidas em Aquacultura na Região Algarvia : Potencial Terapêutico / Propriedades biológicas Macroalgas Verdes Produzidas em Aquacultura na Região Algarvia : Potencial Terapêutico / Propriedades biológicas* [Universidade do Algarve]. <http://hdl.handle.net/10400.1/10480>
- Sanz-Hernández, A., Esteban, E., & Garrido, P. (2019). Transition to a bioeconomy: Perspectives from social sciences. *Journal of Cleaner Production*, 224, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.168>
- Schiener, P., Black, K. D., Stanley, M. S., & Green, D. H. (2015). The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta*. *Journal of Applied Phycology*, 27(1), 363–373. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0327-1>
- Seghetta, M., Hou, X., Bastianoni, S., Bjerre, A. B., & Thomsen, M. (2016). Life cycle assessment of macroalgal biorefinery for the production of ethanol, proteins and fertilizers – A step towards a regenerative bioeconomy. *Journal of Cleaner Production*, 137, 1158–1169. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.195>

- Sharma, L., Banerjee, M., Malik, G. C., Gopalakrishnan, V. A. K., Zodape, S. T., & Ghosh, A. (2017). Sustainable agro-technology for enhancement of rice production in the red and lateritic soils using seaweed based biostimulants. *Journal of Cleaner Production*, 149, 968–975. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.02.153>
- Singh, S., Singh, M. K., Pal, S. K., Trivedi, K., Yesuraj, D., Singh, C. S., Anand, K. G. V., Chandramohan, M., Patidar, R., Kubavat, D., Zodape, S. T., & Ghosh, A. (2016). Sustainable enhancement in yield and quality of rain-fed maize through *Gracilaria edulis* and *Kappaphycus alvarezii* seaweed sap. *Journal of Applied Phycology*, 28(3), 2099–2112. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0680-8>
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., & Klenk, D. C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150(1), 76–85. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(85\)90442-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(85)90442-7)
- Solarte-Toro, J. C., & Cardona Alzate, C. A. (2021). Biorefineries as the base for accomplishing the sustainable development goals (SDGs) and the transition to bioeconomy: Technical aspects, challenges and perspectives. *Bioresource Technology*, 340(July), 125626. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125626>
- Subhadra, B., & Grinson-George. (2011). Algal biorefinery-based industry: An approach to address fuel and food insecurity for a carbon-smart world. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1), 2–13. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4207>
- Sudhakar, K., Mamat, R., Samykano, M., Azmi, W. H., Ishak, W. F. W., & Yusaf, T. (2018). An overview of marine macroalgae as bioresource. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 91(March), 165–179. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.100>
- Tabarsa, M., Rezaei, M., Ramezanpour, Z., & Waaland, J. R. (2012). Chemical compositions of the marine algae *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) as a potential food source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(12), 2500–2506. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5659>
- Tanisho, S., & Ishiwata, Y. (1994). Continuous hydrogen production from molasses by the bacterium *Enterobacter aerogenes*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 19(10), 807–812. [https://doi.org/10.1016/0360-3199\(94\)90197-X](https://doi.org/10.1016/0360-3199(94)90197-X)
- Tapia-Venegas, E., Ramirez-Morales, J. E., Silva-Illanes, F., Toledo-Alarcón, J., Paillet, F., Escudie, R., Lay, C. H., Chu, C. Y., Leu, H. J., Marone, A., Lin, C. Y., Kim, D. H., Trably, E., & Ruiz-Filippi, G. (2015). Biohydrogen production by dark fermentation: scaling-up and technologies integration for a sustainable system. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 14(4), 761–785. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9383-5>
- Torres, M. D., Kraan, S., & Domínguez, H. (2019). Seaweed biorefinery. In *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* (Vol. 18, Issue 2, pp. 335–388). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11157-019-09496-y>

- Trache, D., Hussin, M. H., Hui Chuin, C. T., Sabar, S., Fazita, M. R. N., Taiwo, O. F. A., Hassan, T. M., & Haafiz, M. K. M. (2016). Microcrystalline cellulose: Isolation, characterization and bio-composites application—A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 789–804. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.056>
- Tripathi, N., Hills, C. D., Singh, R. S., & Atkinson, C. J. (2019). Biomass waste utilisation in low-carbon products: harnessing a major potential resource. *Npj Climate and Atmospheric Science*, 2(1). <https://doi.org/10.1038/s41612-019-0093-5>
- Trivedi, N., Baghel, R. S., Bothwell, J., Gupta, V., Reddy, C. R. K., Lali, A. M., & Jha, B. (2016). An integrated process for the extraction of fuel and chemicals from marine macroalgal biomass. *Scientific Reports*, 6, 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep30728>
- Tursi, A. (2019). A review on biomass: Importance, chemistry, classification, and conversion. In *Biofuel Research Journal* (Vol. 6, Issue 2, pp. 962–979). Green Wave Publishing of Canada. <https://doi.org/10.18331/BRJ2019.6.2.3>
- Ubando, A. T., Felix, C. B., & Chen, W. H. (2020). Biorefineries in circular bioeconomy: A comprehensive review. *Bioresource Technology*, 299(December 2019). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122585>
- URQUIAGA, I., & LEIGHTON, F. (2000). Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biological Research*, 33(2), 21–28. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602000000200004>
- Valderrama D, Cai J, H. N. (2014). Social and economic dimensions of carrageenan seaweed farming in Indonesia. In *Social and economic dimensions of carrageenan seaweed farming*.
- van der Wal, H., Sperber, B. L. H. M., Houweling-Tan, B., Bakker, R. R. C., Brandenburg, W., & López-Contreras, A. M. (2013). Production of acetone, butanol, and ethanol from biomass of the green seaweed *Ulva lactuca*. *Bioresource Technology*, 128, 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.094>
- van Hal, J. W., Huijgen, W. J. J., & López-Contreras, A. M. (2014). Opportunities and challenges for seaweed in the biobased economy. *Trends in Biotechnology*, 32(5), 231–233. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.02.007>
- van Ree, R., Annevelink, B., René van Ree, A., de Jong, E., Reijnders, J., & Kwant, K. (2007). *Status Report Biorefinery 2007 Colophon Title Status Report Biorefinery 2007*. www.afsg.wur.nl/0Awww.biorefinery.nl
- Vasco, J. M. N. (2014). Design and analysis of the polyhydroxybutyrate (PHB) production from agroindustrial wastes in Colombia. In *Tesis de Doctorado*.
- Vassilev, S. v., & Vassileva, C. G. (2016). Composition, properties and challenges of algae biomass for biofuel application: An overview. *Fuel*, 181, 1–33. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.04.106>

- Vaz Jr., S. (2012). As biorrefinarias como oportunidade de agregar valor à biomassa. *Agroenergia Em Revista*, 11–12. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/61654/1/Revista-Agroenergia-4-Silvio-vaz.pdf>
- Vaz, S. (2014). A renewable chemistry linked to the Brazilian biofuel production. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 1(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s40538-014-0013-1>
- Venus, J., Fiore, S., Demichelis, F., & Pleissner, D. (2018). Centralized and decentralized utilization of organic residues for lactic acid production. *Journal of Cleaner Production*, 172, 778–785. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.259>
- Verlinden, R. A. J., Hill, D. J., Kenward, M. A., Williams, C. D., & Radecka, I. (2007). Bacterial synthesis of biodegradable polyhydroxyalkanoates. *Journal of Applied Microbiology*, 102(6), 1437–1449. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03335.x>
- Vieira, H., Leal, M. C., & Calado, R. (2020). Fifty Shades of Blue: How Blue Biotechnology is Shaping the Bioeconomy. *Trends in Biotechnology*, 38(9), 940–943. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.03.011>
- Wang, M., & Hu, C. (2017). Predicting Sargassum blooms in the Caribbean Sea from MODIS observations. *Geophysical Research Letters*, 44(7), 3265–3273. <https://doi.org/10.1002/2017GL072932>
- Wu, H., Zhang, J., Yarish, C., He, P., & Kim, J. K. (2018). Bioremediation and nutrient migration during blooms of *Ulva* in the Yellow Sea, China. *Phycologia*, 57(2), 223–231. <https://doi.org/10.2216/17-32.1>
- Yaich, H., Garna, H., Bchir, B., Besbes, S., Paquot, M., Richel, A., Blecker, C., & Attia, H. (2015). Chemical composition and functional properties of dietary fibre extracted by Englyst and Prosky methods from the alga *Ulva lactuca* collected in Tunisia. *Algal Research*, 9(2015), 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.017>
- Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food Chemistry*, 128(4), 895–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.114>
- Yanik, J., Stahl, R., Troeger, N., & Sinag, A. (2013). Pyrolysis of algal biomass. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 103, 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2012.08.016>
- Yasuda, M., Nagai, H., Takeo, K., Ishii, Y., & Ohta, K. (2014). Bio-ethanol production through simultaneous saccharification and co-fermentation (SSCF) of a low-moisture anhydrous ammonia (LMAA)-pretreated napiegrass (*Pennisetum purpureum* Schumach). *SpringerPlus*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-333>

- Yoshida, T., & Nagasawa, T. (2003). ϵ -poly-L-lysine: Microbial production, biodegradation and application potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 62(1), 21–26. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1312-9>
- Zenthoefer, M., Geisen, U., Hofmann-Peiker, K., Fuhrmann, M., Kerber, J., Kirchhöfer, R., Hennig, S., Peipp, M., Geyer, R., Piker, L., & Kalthoff, H. (2017). Isolation of polyphenols with anticancer activity from the Baltic Sea brown seaweed *Fucus vesiculosus* using bioassay-guided fractionation. *Journal of Applied Phycology*, 29(4), 2021–2037. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1080-z>
- Zhou, Q. I., & Berglund, L. A. (2015). *PLA-nanocellulose Biocomposites*. 12.
- Zollmann, M., Robin, A., Prabhu, M., Polikovsky, M., Gillis, A., Greiserman, S., & Golberg, A. (2019). Green technology in green macroalgal biorefineries. *Phycologia*, 58(5), 516–534. <https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1640516>

ANEXOS

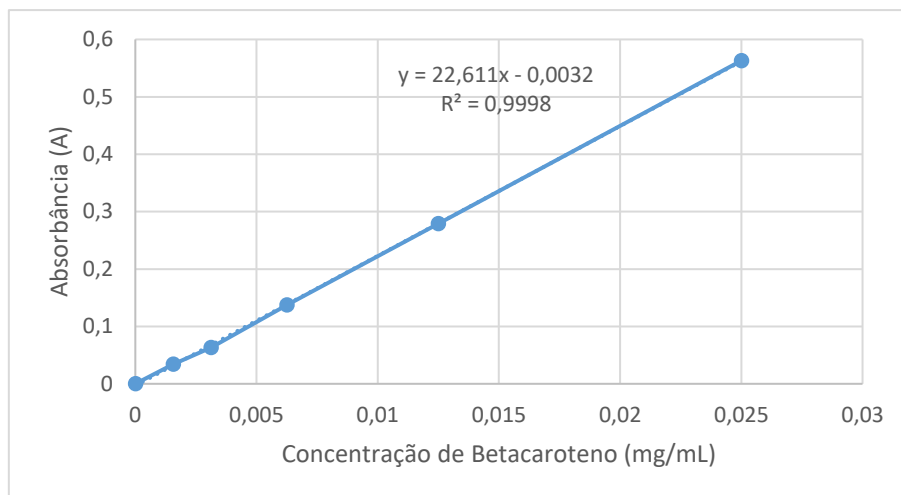
7.1 Anexo 1

7.2 Anexo 2

7. ANEXOS

7.1. Anexo 1

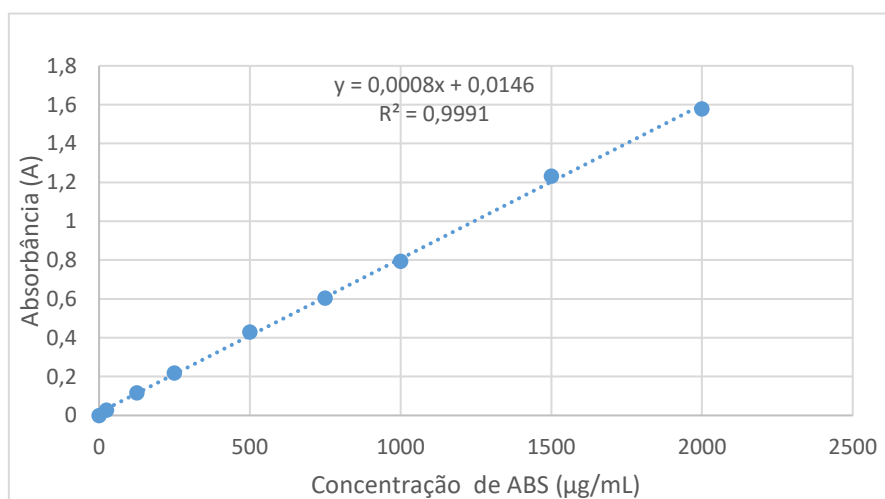
Quantificação de carotenoides totais



Curva de calibração de betacaroteno.

7.2. Anexo 2

Quantificação de proteínas totais



Curva padrão de calibração de ASB.