

REBECA FERREIRA LEMOS VASCONCELOS

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Chlorella vulgaris* (Chordat) PARA EXTRAÇÃO DE
ÓLEO**

**RECIFE,
2012**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Chlorella vulgaris* (Chordat) PARA EXTRAÇÃO DE
ÓLEO**

Rebeca Ferreira Lemos Vasconcelos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez
Orientador

Recife,
Dezembro/2012

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Chlorella vulgaris* (Chordat) PARA EXTRAÇÃO DE
ÓLEO**

Rebeca Ferreira Lemos Vasconcelos

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e aprovada em 20/12/2012 pela seguinte Banca Examinadora.

Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez (Orientador)
Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Eudes de Souza Correia (Membro Interno)
Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra (Membro Interno)
Departamento de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Paulo Roberto Campagnoli de Oliveira Filho (Membro Externo)
Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Maria Raquel Coimbra (Membro Suplente)
Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ficha catalográfica

V331p Vasconcelos, Rebeca Ferreira Lemos
Produção de biomassa de *Chlorella vulgaris* (Chordat) para
extração de óleo / Rebeca Ferreira Lemos Vasconcelos. – Recife,
2012.
40 f. : il.

Orientador: Alfredo Olivera Galvez.
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura)
– Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de
Pesca Recife, 2012.
Referências.

1. Combustíveis renováveis 2. Floculantes 3. Crescimento
I. Olivera Galvez, Alfredo, orientador II. Título

CDD 639.3

Dedicatória

Dedico este trabalho:

*Aos Meus Pais **José Barbosa de Vasconcelos** e **Terezinha Ferreira Lemos Vasconcelos** e a minha **Irmã Rafaela Ferreira Lemos Vasconcelos** (in memoriam).*

Agradecimentos

À Deus.

Ao Programa de Pós Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura – PPG - RPAq pela contribuição de minha formação acadêmica.

Ao meu orientador o professor Dr. Alfredo Gálvez, pelas contribuições durante a realização deste trabalho.

Ao CNPQ através do projeto Formação de recursos humanos e interações interinstitucionais para validação de metodologias inovadoras aplicadas a produção e caracterização de biodiesel e coprodutos, pela bolsa concedida de 03/2011 e 08/2012.

E Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (Reuni), pela bolsa concedida de 09/2012 a 02/2013

Aos membros da banca examinadora; o Professor Alfredo Olivera, Prof. Eudes Correia, Profª Raquel Coimbra, Prof. Ranilson Bezerra e Prof. Paulo Roberto, pelas contribuições.

Ao meu namorado Valdemir Fernando da Silva pela sua compreensão.

Aos Amigos do Laboratório de Maricultura Sustentável, em Especial: Ana Odete, Elizabeth Pereira, Emília Carneiro, Henrique Lavander, Isabela Bacalhau, Ítala Sobral, Laenne Barbara, Leônidas Cardoso Jr., Luís Otávio, Marcele Trajano, Priscilla Celes e, Sérgio Rodrigues.

Aos amigos da Pós-Graduação, em Especial: Bruna Cáritas, João Paulo Viana, Juliana Aguiar, Nathalia Calazans e, Suziane Cabral.

Às minhas amigas Chiara Almeida, Kamilla Xavier, Marcella Vasconcelos e Suzane Christine.

Aos meus amigos Diego Lial, Pergentino Neto e Steves Sobral, pela força!

Aos professores do Departamento de Pesca e Aquicultura, e Educação da UFRPE que ao longo da minha graduação e pós-graduação contribuíram para minha formação acadêmica, em especial aos professores: Eudes Correia, Raquel Coimbra, Irenilda Lima, José Nunes, Ana Dubeux, Mônica Lins e Jorge Tavares.

E a todos que passaram pelo LAMARSU e ajudaram a construir essa Dissertação.

Resumo

Atualmente existe muita discussão sobre a produção de Biodiesel e etanol, sendo estudadas novas tecnologias para a obtenção de óleo, como por exemplo, as microalgas, que são um dos mais eficientes sistemas de transformação de energia solar em compostos orgânicos. Esses compostos são em sua maioria carboidratos, proteínas e lipídeos. A grande dificuldade para a produção de biocombustíveis através das algas é a colheita, pois ainda são métodos bastante onerosos, como a centrifugação, floculação, sedimentação, e filtração. Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito dos diferentes floclulantes na obtenção da biomassa da *Chlorella vulgaris* (Chordat). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, composto por quatro bioensaios, nos quais os três primeiros compreendiam quatro tratamentos e três repetições cada, sendo os tratamentos compostos por diferentes molalidades (0,1M, 0,3M, 0,5M e 0,9M) para os agentes floclulantes hidróxido de sódio, cloreto férrico e policloreto de alumínio. Posteriormente foi realizado o quarto bioensaio o qual era composto por três tratamentos e três repetições, onde os tratamentos consistiram em diferentes agentes floclulantes (hidróxido de sódio, policloreto de alumínio e cloreto férrico), na mesma concentração molar (0,5M). Para a experimentação as microalgas da espécie *C. vulgaris* foram condicionadas em unidades experimentais, materiais transparentes com volume útil de 2000 mL, atingindo no sétimo dia a fase exponencial de sua curva de crescimento obtida em testes anteriores. A partir do sétimo dia deu-se início a floculação com uma concentração algal média de 1085×10^4 cel. mL⁻¹, com temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e pH 7,0, aeração constante e intensidade luminosa de 2000 lux. Foi adicionado nas unidades experimentais 1 mL de soluções padrão dos agentes floclulantes, em seguida as microalgas foram submetidas a agitação moderada constante durante 30 segundos. Os dados da variação de pH foram interpretados por meio da análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste Tukey para comparação de médias ao nível de 5%,. Após análise dos dados verificou-se que todos os tratamentos foram diferentes ($P < 0,05$), porém a utilização do hidróxido de sódio como agente floclulante obteve melhor resultado, onde podemos concluir que o hidróxido de sódio é o agente floclulante mais indicado por elevar mais rapidamente o pH da cultura ($11,00 \pm 0,37$), ocorrendo assim a aglutinação e a decantação das células em um curto espaço de tempo, e maior peso da biomassa em relação aos outros tratamentos.

Palavras-chave: combustíveis renováveis, floclulantes, crescimento.

Abstract

Currently there is much debate about the production of biodiesel and ethanol, and new technologies studied for obtaining oil, for example, microalgae, which are one of the most effective systems for conversion of solar energy into organic compounds. These compounds are mostly carbohydrates, proteins and lipids. The major difficulty in the production of biofuels through the harvesting of algae is therefore still quite expensive methods such as centrifugation, flocculation, sedimentation and filtration. This study aims to evaluate the effect of different flocculants in obtaining the biomass of *Chlorella vulgaris* (Chordat). The experimental design was completely randomized, with four bioassays, in which the first three comprised four treatments and three repetitions each composed of different treatments molalities (0.1 M, 0.3 M, 0.5 M and 0.9 M) for flocculating agents sodium hydroxide, ferric chloride and aluminum polychloride. Subsequently fourth bioassay was performed which consisted of three treatments and three replications, where treatments consisted of different flocculating agents (sodium hydroxide, poly aluminum chloride and ferric chloride), in the same molar concentration (0.5 M). For experimentation microalgae of the species *C. vulgaris* were primed in experimental units, transparent materials with a volume of 2000 mL, reaching the seventh day the exponential phase of their growth curve obtained in previous tests. From the seventh day was started with a flocculation concentration algal average 1085×10^4 cel. mL⁻¹, with a temperature of 22 ± 2 ° C and pH 7.0, constant aeration and light intensity of 2000 lux. Was added in experimental units 1 ml of standard solutions of flocculating agents then microalgae were subjected to moderate stirring continuously for 30 seconds. The pH variation data were interpreted by Analysis of Variance (ANOVA) followed by Tukey's test for comparison of means at the level of 5%. Analysis of the data verified that all treatments were different ($P < 0.05$), but the use of sodium hydroxide as the flocculating agent obtained best results, we can conclude that where sodium hydroxide is the most suitable for flocculating agent quickly raise the pH of the culture (11.00 ± 0.37), thus leading to cell clumping and settling in a short time, and greater weight of biomass compared to other treatments.

Key words: renewable fuels, flocculants, growth

Lista de tabelas

	Página
Tabela 1- pH (Média±DP), Peso da biomassa obtida (Média±DP) das diferentes concentrações do agente floculante Hidróxido de Sódio (NaOH).....	27
Tabela 2- pH (Média±DP), Peso da biomassa obtida (Média±DP) das diferentes concentrações do agente floculante Cloreto Férrico (FeCl ₃).....	28
Tabela 3 - pH pH (Média±DP), Peso da biomassa obtida (Média±DP) das diferentes concentrações do agente floculante Policloreto de Alumínio (PAC).....	29
Tabela 4 - Agentes floculantes em relação aos valores médios de pH (Média±DP) e Peso da biomassa obtida (Média±DP).....	30

Sumário

	Página
Dedicatória.....	5
Agradecimentos	6
Resumo.....	7
Abstract	8
Lista de tabelas	9
1- Introdução	11
2- Revisão de literatura	13
3- Objetivos.....	16
4- Referência bibliográfica.....	17
5- Artigo científico.....	20
5.1- Normas da Revista Brasileira de Ciências Agrárias.....	35

1- Introdução

Nos últimos anos, muitos debates têm sido promovidos pela Organização Mundial das Nações Unidas (ONU), a respeito da distribuição de alimento no mundo e transformações de alguns desses alimentos em biocombustíveis como o Etanol e Biodiesel. Com isso, novas fontes de obtenção de biocombustíveis vêm sendo pesquisadas. Dentre elas pode-se citar a extração de óleos vegetais como a soja (*Glycine sp.*), a mamona (*Ricinus sp.*), o pião manso (*Jatropha sp.*), o babaçu (*Orbignya sp.*), entre outros (RIFKIN, 2003).

A diversidade de obtenção de matérias-primas pode garantir a continuidade da produção de biodiesel especialmente pela potencialidade de ser feitas rotações de cultura, ou seja, acabando a safra de uma oleaginosa, inicia-se safra de outra oleaginosa. Recentemente estudos mostram que o biodiesel pode ser obtido a partir de microalgas, pois possui grande potencial como matéria prima, por ser de fácil cultivo, como a simplicidade de nutrientes necessários, a duplicação da biomassa em um curto período de tempo e a possibilidade de manipulação das condições do cultivo (VIJAYARAGHAVAN, 2009).

Devido às microalgas serem capazes de realizar fotossíntese, constitui-se como um dos mais eficientes sistemas de transformação de energia solar em compostos orgânicos, nos mais variados ambientes tais como água doce e salgada, em córregos frios ou quentes e em lagoas (OLAIZOLA, 2003).

A espécie *Chlorella vulgaris* é uma alga unicelular de água doce pertencente à classe *Chlorophyceae*, ordem *Chlorococcales* e família *Oocystaceae*. Apresenta forma de vida unicelular ou colonial, e pode acumular pigmentos como clorofila a e b, β -caroteno e xantofilas. Sua principal fonte de reserva energética é o amido, porém sob condições de estresse nutritivo podem armazenar óleo (WILSON; HUNER, 2000). Esse

óleo é armazenado quando há excesso de nitrogênio em relação ao fósforo em um meio de cultura, e com isso pode se determinar a dominância de uma espécie, ou como ela se comporta dentro daquele sistema, podendo também afetar a absorção e a taxa fotossintética (WEHR e SHEATH, 2003). A melhor relação em N: P varia de acordo com a espécie. Para microalga *Chlorella Vulgaris* esta relação varia de 6N: 2P a 8N: 1P (OH-HAMA e MIYACHI, 1988 *apud* RUSSO, 2011).

Os óleos encontrados nas microalgas possuem características físico-químicas similares aos de óleos vegetais e por isto podem apresentar potencial para a produção de biodiesel. A biomassa algal contém três componentes químicos principais: carboidratos, proteínas e lipídios. Para se constituir uma matéria-prima para a produção de biodiesel, as algas devem ser ricas em ácidos graxos. Uma microalga com um teor de proteína muito alto e baixo teor de lipídios não é considerada útil como matéria-prima para a produção de biocombustível. A maior parte do óleo natural produzido por microalgas está na forma de triacilgliceróis, que é considerado o melhor tipo de óleo para a produção de biodiesel (CHISTI, 2007).

Os métodos mais utilizados para colheita da biomassa algal são os seguintes: Centrifugação; Floculação e Ultrassom (BORODYANSKI; KONSTANTINOV, 2002; BOSMA, 2006). Existem alguns processos de extração que normalmente são precedidos por fases de esmagamento mecânico para facilitar a extração, dentre eles pode-se citar a extração com solvente n-hexano, degradação da parede celular por via enzimática, prensagem em conjunto com solventes orgânicos, uma súbita redução da pressão osmótica com rupturas das células, fluidos super-críticos e ultrassom (RICHMOND, 2004; LI *et al.*, 2008; RUSSO, 2011).

O método de concentração por coagulação/floculação permite obter uma biomassa com menores custos econômicos quando comparado com os demais métodos. Este

processo consiste na adição de agentes químicos capazes de induzir a agregação de células de microalga por neutralização ou inversão das cargas elétricas das paredes celulares, ou pela formação de ligações entre as microalgas (GODOS *et al.*, 2010).

Entre os compostos capazes de induzir a coagulação de microrganismos encontram-se o cálcio (na forma de carbonato, óxido ou hidróxido), sulfato de alumínio, cloreto de ferro, sulfato de ferro, e cloreto de polialumínio. Os floculantes orgânicos usados incluem os polieletrólitos catiônicos e/ou aniônicos e polímeros como os derivados de amido, alginato e quitosana (RENAULT *et al.*, 2009)

2 - Revisão de literatura

Desde o século passado, os combustíveis derivados do petróleo têm sido a principal fonte de energia mundial. No entanto, previsões indicam que este recurso deve se esgotar em poucos anos. Somadas as crescentes preocupações com o meio ambiente, estudos tem sido estimulados para a busca de outras fontes de energia renovável (GHASSAN *et al.*, 2003).

O Protocolo de Kyoto, concebido durante o fórum ambiental Rio-92 e ratificado por mais de 93 países, tentou mobilizar a comunidade internacional para que promova uma ação conjunta com o objetivo de estabilizar na atmosfera a concentração dos gases causadores do efeito estufa e, assim, limitar a interferência antropogênica sobre o sistema climático global (GREENPEACE INTERNATIONAL, 2011). O Brasil, apesar de não ser um dos maiores emissores de gases poluentes, vem promovendo medidas condizentes com essa nova conjuntura, através do desenvolvimento e da atualização periódicas de inventários nacionais sobre o tema (MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 2002).

Metas estabelecidas pelo protocolo de Kyoto somente poderão ser alcançadas pelo uso sustentado da biomassa para fins energéticos. No entanto, sabe-se que fora reduzida a emissão de gases do efeito de estufa em 5,2% em relação aos níveis de 1990, no período entre 2008 e 2012. Apesar de alguns esforços nesse sentido, este objetivo não foi atingido globalmente. Em Dezembro de 2009, a ONU promoveu uma reunião com os líderes mundiais com o objetivo de refletir sobre o que foi feito desde 1999 e discutir futuros vínculos. Contudo, os objetivos iniciais da conferência não foram atingidos, tendo terminado sem qualquer compromisso oficial (GARCIA, 2009).

Diante desse potencial, tem havido uma crescente disseminação de projetos e de ações voltadas para o uso de óleos vegetais e de resíduos urbanos e agroindustriais para a geração de energia, particularmente por meio de projetos de co-geração, como por exemplo, a extração de óleo de vísceras de suínos (CENBIO, 2003).

A utilização de óleos vegetais *in natura* como combustível alternativo ao petróleo tem sido alvo de diversos estudos nas últimas décadas (NAG *et al.*, 1995; PIYAPORN *et al.*, 1996). No Brasil, já foram realizadas pesquisas com os óleos virgens de macaúba (*Acronomia sp.*), pião-manso (*Jatropha sp.*), dendê (*Elaeis sp.*), indaiá (*Attalea sp.*), buriti (*Mauritia sp.*), pequi (*Caryocar sp.*), mamona (*Ricinus sp.*), babaçu (*Orbignya sp.*), tingui (*Jacquinia sp.*) e pupunha (*Bactris sp.*) (BARRETO, 1982; MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E DO COMÉRCIO, 1985; SERRUYA, 1991) como fonte de biodiesel a ser utilizado em testes em caminhões e máquinas agrícolas (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E DO COMÉRCIO, 1985).

Alguns autores demonstram que a alta viscosidade e a volatilidade dos óleos vegetais *in natura* podem provocar sérios problemas ao bom funcionamento do motor (GOERING E FRY; 1984; GHASSAN *et al.*, 2003) como a formação de depósitos de carbono por combustão incompleta, diminuição da eficiência de lubrificação do óleo

pela ocorrência de polimerização (no caso de óleos poli-insaturados) e a atomização ineficiente e/ou entupimento dos sistemas de injeção (PETERSON *et al.* 1983; PRYDE, 1983; MA e HANNA, 1999).

O Biodiesel é o produto da transesterificação de óleos vegetais que atende aos parâmetros fixados pelas normas ASTM D6751 (AMERICAM STANDARD TESTING METHODS, 2003) e DIN 14214 (DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG, 2003), ou pela portaria nº 255 da ANP (AGENCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, 2003) que, apesar de provisória, já estabelece as especificações que deverão ser exigidas para que esse produto seja aceito no mercado brasileiro.

Os ácidos graxos utilizados para a produção de biodiesel podem ser oriundos de diversos vegetais, inclusive em vegetais inferiores tais como as microalgas. Estas por sua vez possuem características físico-químicas aos de óleos vegetais superiores, e por isso apresentam potencial para a produção de biodiesel (FAO, 2006).

O cultivo de microalgas apresenta várias características interessantes tais como: custos relativamente baixos para a colheita, transporte e menor gasto de água, quando comparados aos de cultivos de plantas; além de poder ser realizado em condições não adequadas para a produção de culturas convencionais. As microalgas apresentam maior eficiência fotossintética que os vegetais superiores, podem ser cultivadas em meio salino e são eficientes fixadoras de CO₂ (FAO, 2006).

Do ponto de vista econômico, a viabilidade do biodiesel está relacionada com o estabelecimento de um equilíbrio favorável na balança comercial, visto que o óleo diesel é o derivado de petróleo mais consumido no Brasil e que uma fração crescente deste produto vem sendo importada anualmente (NOGUEIRA E PIKMAN, 2002).

Em termos ambientais, a adoção do biodiesel, mesmo que em pequenas porcentagens (2% a 5%) no óleo diesel de petróleo (MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E

TECNOLOGIA, 2002), resultarão em uma redução significativa nas emissões de materiais particulados, óxidos de enxofre e outros gases que contribuem para o efeito estufa (MITTELBAACH *et al.*, 1985). Sendo assim, a utilização do biodiesel a longo prazo proporcionará maior expectativa de vida da população, declínio nos gastos com saúde pública e possibilitando o redirecionamento de verbas para outros setores como educação e previdência social (MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 2002).

Cabe aqui ainda ressaltar que a adição de biodiesel ao diesel oriundo de petróleo, melhora as características do combustível fóssil, com a redução dos níveis de ruído e melhoria na eficiência da combustão pelo aumento do número de cetano. Além disso, este tema dá importância à adoção de políticas de estímulo ao uso e produção do biodiesel, possibilitando a consolidação perante o mercado consumidor (GALLO, 2003).

3 – Objetivos

3.1 – Objetivo Geral

Cultivar *Chlorella vulgaris* (Chordat) visando à obtenção de biomassa algal, para extração de óleo.

3.2 – Objetivo Específico

Avaliar metodologia de coleta de biomassa algal da *Chlorella vulgaris* (Chordat), utilizando as técnicas de floculação.

4- Referência bibliográfica

American Society Testing Methods. S6751. USA, 2003

ANP, AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Portarias de Qualidade, 2003. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/?id=478>> Acesso em: 17.06.2012.

BARRETO, C.R. Óleo de dendê substitui petróleo como combustível e matéria-prima. **Petro&Quimica**, ano 5, n°50, out/1982

BORODYANSKI, G. e KONSTANTINOV, I.; Microalgae separator apparatus and method, **US Pat.** 6524486. 2002

BOSMA, R.; Ultrasound: A new technique to harvest microalgae?, **Universidade Twente**. 2006.

CENBIO, CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA EM BIOMASSA. Banco de dados de biomassa no Brasil. Disponível em: < <http://cenbio.iee.usp.br/>> Acesso em: 17.06.2012.

CHISTI, Y.; Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v.25 (3),. Classification, 1ª edição, Academic Press, p. 294-306, 2007.

Deutsches Institut Für Normung E.V. 14214. Alemanha, 2003.

FAO – Oil Production – Chapter 6. Disponível em: < <http://www.fao.org/docrep/w7241e/w7241e0h.htm>> Acesso em: 17.06.2012.

GALLO, W.L.R. Especificações de novos combustíveis: o papel da ANP. In: Seminário Paranaense de Biodiesel, 1, 2003, Londrina. **Anais Eletrônicos...** Disponível em: < <http://www.tecpar.br/cerbio/Seminario-palestras.htm>> Acesso em: 26.05.2011.

GARCIA, R., Disponível em
<<http://static.publico.clix.pt/copenhaga/noticia.aspx?ed=1414663>> Acesso em
31.12.2012.

GHASSAN, T.A.; MOHAMAND I.; AL-WIDYAN, B.; ALI, O.A. Combustion performance and emissions of ethyl of a waste vegetable oil in a water-cooled furnace. **Appl. Termal Eng.**, v.23, p. 285-293, 2003.

GODOS, I. DE, VARGAS; V.A, S. BLANCO; GONZÁLEZ, M. C. G.; SOTO, R.; GARCÍA-ENCINA, P. A. E.; BECARES E MUÑOZ, R., A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. **Bioresource Technology**, 101(14): 5150-8. doi:10.1016/j.biortech.2010.02.10, 2010

GOERING, C.E.; FRY, B. Engine durability screening test of a dieseloil/ soy oil/ alcohol microemulsion fuel. J. Am. **Oil Chem. Soc.**, v.61 n.10, p. 1627-1631, 1984.

GREENPEACE INTERNACIONAL – Kyoto protocol. Disponível em: <http://www.greenpeace.org/international_en/> Acesso em 17.06.2012.

KOBMEHL, S. O.; HEINRICH, H.; Assessment of the use of biofuels in passenger vehicles. Sustainable agricultural for food, energy and industry, p.867-875, 1998.

MA, F.; HANNA, M.A. Biodiesel production: a review. **Biores. Technol.**, v.70, n.1, p 1-15, 1999.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA, Primeiro Inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa. Brasília. 2002.

MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E DO COMÉRCIO, Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais. Brasília: Secretaria de tecnologia Industrial, 364p, 1985.

OLAIZOLA, M.; Microalgal removal of CO₂ from flue gases: Changes in medium ph and flue gas composition do not appear to affect the photochemical yield of microalgal cultures. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v.8 (6), 360-367, 2003.

RENAULT, F.; SANCEY, B; BADOT; P. M.; CRINI, G. Chitosan for coagulation/flocculation processes – An eco-friendly approach. **European Polymer Journal**, 45(5): 1337-1348. doi:10.1016/j.eurpolymj.2008.12.027, 2009.

RICHMOND, A.; Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied **Phycology**, 1ª edição, Blackwell Science Ltd. 2004

RIFKIN, J. A economia do hidrogênio. São Paulo, **M. Books**, 301p, 2003.

RUSSO, D.A.M.T Estudo do crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* numa água residual tratada, sob diferentes condições de Fotoperíodo e temperatura. 2011. 111p. (**Dissertação Mestrado**) – Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia. Lisboa, Portugal.

VIJAYARAGHAVAN, K.; HEMANATHAN, K. Biodiesel Production from Freshwater Algae. **Energy Fuels**, v.23 (11), 5448–5453, 2009.

WEHR, J. e SHEATH, R. Freshwater algae of North America - **Ecology and classification**, 1ª edição, Academic Press, 2003.

WILSON K. E., HUNER N. P. A. The role of growth rate, redox-state of the plastoquinome pool and the trans-thylakoid Delta pH in photo acclimation of *Chlorella vulgaris* to growth irradiance and temperature. **Planta**. 212p: 93-102; 2001.

5- Artigo científico

EFEITO DE DIFERENTES AGENTES FLOCULANTES NA OBTENÇÃO DE BIOMASSA DA MICROALGA *Chlorella vulgaris* (CHORDAT)

Rebeca Vasconcelos, Marcele Araújo, Elizabeth Santos, e Alfredo Gálvez

Artigo científico a ser encaminhado; a **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**.

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as estabelecidas pela referida revista (em anexo).

Efeito de diferentes agentes floculantes na obtenção de biomassa da microalga
***Chlorella vulgaris* (Chordat)**

Effect of different flocculants in obtaining biomass of microalgae *Chlorella vulgaris*
(Chordat)

Rebeca Vasconcelos¹, Marcele Araújo¹, Elizabeth Santos¹, e Alfredo Gálvez¹

¹Laboratório de Maricultura Sustentável – LAMARSU, Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmão, CEP: 52171-900, Recife – PE, Brasil. Tel.: 33206597. Fax: 33206502. E-mail: rebecalemos_eng.pesca@hotmail.com

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes agentes floculantes na obtenção da biomassa da *Chlorella vulgaris* (Chordat). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, composto por quatro bioensaios, nos quais os três primeiros compreendiam quatro tratamentos e três repetições cada, sendo os tratamentos compostos por diferentes molalidades (0,1M, 0,3M, 0,5M e 0,9M) para os agentes floculantes Hidróxido de Sódio, Cloreto Férrico e Policloreto de Alumínio. Posteriormente foi realizado o quarto bioensaio, composto pelos diferentes agentes floculante totalizando três tratamentos e três repetições (0,5M). A microalga da espécie *C. vulgaris* foi condicionada em erlermeyer com volume útil de 2000 mL, atingindo no sétimo dia a fase exponencial de sua curva de crescimento, iniciando a floculação. Os dados da variação de pH foram interpretados por meio da análise de variância, seguido pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Verificou-se diferença ($P < 0,05$) em todos os tratamentos, porém a utilização do Hidróxido de Sódio como agente floculante obteve melhor

resultado por elevar rapidamente o pH da cultura ($11,00 \pm 0,37$) e proporcionar maior peso de biomassa seca ($0,1360 \pm 0,0036$ g/L).

Palavras chave: combustíveis renováveis, floculantes, crescimento.

The objective of this study was to evaluate the effect of different agents for obtaining flocculent biomass of *Chlorella vulgaris* (Chordat). The experimental design was completely randomized, with four bioassays, in which the first three comprised four treatments and three repetitions each composed of different treatments molalities (0.1 M, 0.3 M, 0.5 M and 0.9 M) for flocculating agents Sodium Hydroxide, ferric chloride and poly aluminum chloride. Subsequently the fourth bioassay was performed, composed by different agents flocculant with three treatments and three replications (0.5 M). The microalgae species *C. vulgaris* was conditioned on erlermeyer with a volume of 2000 mL, reaching the seventh day the exponential phase of their growth curve, starting flocculation. The data of pH changes were interpreted by analysis of variance followed by Tukey test ($P < 0.05$). There was a difference ($P < 0.05$) in all treatments, but the use of Sodium Hydroxide as flocculant agent obtained a better result by rapidly raising the pH of the culture (11.00 ± 0.37) and provide greater weight dry biomass (0.1360 ± 0.0036 g / L).

Abstract

Key words: renewable fuels, flocculants, growth

INTRODUÇÃO

As microalgas são organismos microscópicos, fotossintetizantes, capazes de se desenvolver tanto em água doce como em água salgada. Embora o mecanismo fotossintético seja semelhante ao das plantas superiores, a ausência de caule e folhas e o fato de se encontrarem submersas na água facilitam o acesso ao dióxido de carbono e nutrientes. Isso faz com que apresentem altas taxas de crescimento e elevadas produções de biomassa em curto espaço de tempo (Schenk et al, 2008; Pulz & Gross,2004).

Atualmente o potencial biotecnológico de microalgas e seus compostos buscam conhecer as propriedades biológicas inerentes as moléculas presentes na biomassa tais como: polissacarídeos, compostos carotenóides e lipídios importantes para produção de biodiesel e pela presença de ácidos graxos poliinsaturados. Algumas propriedades biológicas das microalgas tais como: imune estimulantes, antivirais e anti-hiperlipidêmicas, podem ser derivadas dos polissacarídeos presentes na biomassa, além

de poder ser utilizada como alimento, produtos farmacêuticos ou então transformados em bicompostíveis (Dvir et al., 2009; Talyshinsky et al., 2002; Bao et al., 2001).

A biotecnologia desses organismos, basicamente pode ser dividida em duas fases: a produção controlada da biomassa algal e o aproveitamento desta biomassa. Na primeira fase, os cultivos são realizados sob condições que podem induzir as células algais a produzir determinadas substâncias de interesse econômico. Na segunda fase, as células são separadas do meio de cultura, podendo assim ser usadas de forma direta, ou indireta que consiste na submissão a processos de extração de compostos químicos (Vinatea, 2004). A separação das células do meio de cultura pode ser realizada por centrifugação, filtração e floculação (sendo esta natural ou induzida) (Brennan e Owende, 2009).

O método de floculação consiste na redução da carga elétrica superficial das células com a produção de forças capazes de mantê-las afastadas entre si. A ação do agente floculante é proporcionada por eletrólitos que reduzirá as forças que tendem a manter as células afastadas. Ocorre então à neutralização e os flocos são formados, o que faz com que se perca a capacidade de mantê-las em suspensão ocasionando a decantação. (CPRH, 2001; Cardoso, 2003). Qualquer processo não controlado que mude o pH e produza agregação das células é entendido como floculação espontânea. O processo de floculação induzida ocorre por agentes floculantes, tais como: meio de cultura de sais catiônicos (FeCl_3 , Al_2SO_4), polímeros catiônicos (quitosana) e bases fortes (NaOH).

A espécie *Chlorella vulgaris* é uma microalga unicelular que habita água doce ou meios estuarinos, pertencente à divisão *Chlorophyta*, ordem *Chlorococcales* e família *Oocystaceae*. Pode formar colônias, acumular pigmentos como clorofila a e b, β -caroteno e xantofilas. A sua forma de reserva de carbono intracelular é constituído por amido. Algumas espécies de microalgas sob condições ambientais adversas, como stress nutritivo (falta de nitrogênio ou fósforo), podem acumular lipídeos. (Klok, 2010).

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes agentes floculantes na obtenção de biomassa de *Chlorella Vulgaris* (Chordat).

MATERIAL E MÉTODOS

Localização

A pesquisa foi realizada em Laboratório de Maricultura Sustentável (LAMARSU), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), entre os meses de outubro de 2011 e Junho de 2012, sendo os dois primeiros meses destinados apenas à purificação

das cepas e nos meses seguintes realizados os bioensaios e a produção em larga escala para extração da biomassa.

Purificação das cepas

A espécie utilizada no presente trabalho foi a *C. vulgaris*. Para purificação foram utilizadas diluições sucessivas, que constituiu da utilização de tubos de ensaios de 5mL, retirando uma alíquota de 1mL de Cepa contaminada e introduzida em tubos de ensaios enriquecidos com meio Provasoli (1958) com água autoclavada e vitaminas do complexo B (B1, B6 e B12) até a purificação. As cepas foram mantidas a uma temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 24 h luz.

Característica do Cultivo

Todos os bioensaios foram inoculados com 10×10^4 cel.mL⁻¹ de *C. vulgaris* em água esterilizada (121°C por 20 min), enriquecida com meio de cultura Provasoli (1958) com volume útil de 2000mL e adicionados vitaminas do complexo B. A experimentação foi realizada por um período de 9 a 13 dias com temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, pH 7, intensidade luminosa de 2000 lux, aeração constante.

Crescimento populacional Algal

Para se determinar a multiplicação algal, foi realizada contagem celular diária a cada 24h, com o auxílio de um Hemacitômetro (Câmara de Neubauer) e microscópio óptico (aumento de 400). As amostras eram retiradas com pipeta Pasteur, esterilizadas, colocadas em recipiente plástico com volume útil de 5 mL e fixadas com formol a 4%.

Os parâmetros analisados foram: tempo de duplicação (T_d), que é o momento em que a população duplica o número celular e a velocidade de crescimento (K), que representa o número de divisões celulares num intervalo de tempo (dias). O cálculo da velocidade de crescimento foi determinado pela fórmula: $K_{\text{total}} = 3,322 / (T_{\text{final}} - T_{\text{inicial}}) \cdot \text{LOG}(N_{\text{final}}/N_{\text{inicial}})$ (Stein, 1973).

Onde: 3,322 é o fator de conversão do logaritmo base 2 a 10, T_{inicial} é a unidade de tempo inicial (1º dia de contagem ou 1º dia da fase exponencial), T_{final} é a unidade de tempo final (último dia de contagem ou último dia da fase exponencial), N_{inicial} é a densidade celular inicial (densidade do 1º dia de contagem ou 1º dia da fase

exponencial), N_{final} é a densidade celular final (densidade do último dia de contagem ou último dia da fase exponencial), Log é o logaritmo na base e e K_{total} é a velocidade de crescimento total de cultivo.

O tempo de duplicação (T_d) foi determinado pela seguinte fórmula: $T_d = 1/K$ (Stein, 1973).

Desenho experimental: Bioensaios

Foram realizados quatro bioensaios, sendo três bioensaios com quatro tratamentos e três repetições cada, em um delineamento inteiramente casualizado. O último bioensaio utilizou a melhor concentração dos três tratamentos utilizados nos bioensaios anteriores, o que resultou em um bioensaio com três tratamentos e três repetições em delineamento inteiramente casualizado.

- Bioensaio 1: Segregação algal com concentrações de 0,1M, 0,3M, 0,5M e 0,9M do agente floculante Hidróxido de Sódio (NaOH) a 98% de Pureza.
- Bioensaio 2: Segregação algal com concentrações de 0,1M, 0,3M, 0,5M e 0,9M do agente floculante Cloreto Férrico (FeCl_3) a 97% de Pureza
- Bioensaio 3: Segregação algal com concentrações de 0,1M, 0,3M, 0,5M e 0,9M do agente floculante Policloreto de Alumínio a 40% de Pureza
- Bioensaio 4: Segregação algal com diferentes agentes floculantes a uma concentração molar de 0,5M: Policloreto de Alumínio (a 40% de Pureza), Hidróxido de Sódio (a 98% de Pureza) e Cloreto Férrico (a 97% Pureza).

Por fim, realizou-se a validação do método para a obtenção da biomassa algal. As algas foram cultivadas em tanques de fibra de vidro transparentes com aeração constante, contendo meio de cultura Provasoli (1958), temperatura de 35 ± 2 °C, pH 6.8 e fotoperíodo natural, caracterizando assim um cultivo semicontínuo. Foi atingido um volume de produção máxima de 80L e a biomassa foi separada do meio por floculação. A água foi retirada por sifonação e a biomassa úmida foi coletada e foi seca com exposição ao sol.

Análise Estatística

Os valores de pH foram submetidos a análise estatística. Todos os dados obtidos foram normais e homogêneos. Para realizar os testes foi utilizado o programa estatístico “BioEstat 5.3”, aplicando-se a análise de variância ANOVA ($P < 0,05$) e constatada diferença significativa, aplicou-se o teste de TUKEY ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise do Crescimento

Para o primeiro bioensaio que visava à segregação algal em diferentes concentrações de Hidróxido de Sódio, obteve-se um crescimento celular de $K = 2,17 \pm 0,10$. Essa velocidade de crescimento foi superior ao encontrado por Souza (2009), que ao avaliar o crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* (Chordat) em diferentes pH, obteve para um pH 7 um $K = 0,11$,

Para o bioensaio que visava à floculação com Cloreto Férrico em diferentes concentrações, obteve-se um TD de $0,69 \pm 0,01$. Souza (2009), avaliando a influência do fotoperíodo no cultivo da *C. vulgaris* (Chordat) alcançou um Tempo de duplicação de 1,23 dias, valor inferior ao observado no presente trabalho.

Em diferentes concentrações molares de Policloreto de alumínio, a concentração algal foi de $K = 1,28 \pm 0,06$, para velocidade de crescimento e TD = $0,78 \pm 0,02$. Estes valores foram próximos aos encontrados por Ohse (2008), para mesma alga estudada, de 0,79 para TD e 1,27 para K .

No quarto bioensaio observou-se um $K = 1,24 \pm 0,14$ e um TD = $0,80 \pm 0,01$. Souza (2009) obteve um $K = 0,71 \pm 0,013$ e TD = $1,396 \pm 0,026$ para as mesmas condições de cultivo, obtendo-se assim um melhor resultado para esse trabalho.

Outros fatores que influenciam o crescimento algal são o pH e a temperatura escolhida para o cultivo. Mayo & Noike (1994) estudando o efeito da concentração de íons de hidrogênio no crescimento da *Chlorella vulgaris* (Chordat) entre pH 3,0 e 11,5, relataram a preferência da microalga pelo pH entre 5,5 e 8,0, e também a sensibilidade da espécie por pH básico, afetando a produção da biomassa algal. Corroborando com o pH utilizado nos bioensaios (7,0).

A temperatura do cultivo foi de $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Segundo Mayo (1997), no crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* (Chordat), constatou-se que as maiores densidades

celulares ocorrem entre 25 e 35°C. Kerby e Stewart, 2003, observaram que o rápido crescimento da microalga *Chlorella minutissima* ocorrem na temperatura de 20 a 30°C. Desta forma, a *Chlorella vulgaris* (Chordat) pode apresentar um eficiente crescimento em regiões de clima tropical.

Protocolo de Floculação

Comparação entre as diferentes concentrações do agente floculante Hidróxido de Sódio (NaOH)

Avaliando a segregação do agente floculante Hidróxido de sódio pode-se observar floculação em todos os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. pH (Média±DP), Peso da biomassa obtida (Média±DP) das diferentes concentrações do agente floculante hidróxido de sódio (NaOH)

Table 1. pH(Means±SD), Weight biomass obtained (Means±SD) of different concentrations of Sodium Hydroxide flocculating agent

Concentração Molar	pH Médio ± DP	Peso Médio ± DP (g.L)
0,1M	8,46±0,72 ^{a*}	0,1153±0,0025 ^{a*}
0,3M	8,76±0,36 ^a	0,1143±0,0035 ^a
0,5M	9,73±0,45 ^a	0,1200±0,0010 ^a
0,9M	9,73±0,95 ^a	0,1183±0,0015 ^a

*Letras iguais representam igualdades estatísticas (p>0,05)

Não houve diferença (p>0,05) entre os tratamentos (p= 0,5441). Pode-se observar que os tratamentos onde foram utilizadas as soluções com concentrações de 0,5M e 0,9M obtiveram os melhores resultados por ocorrer a floculação total da cultura que é confirmado pelo valor obtido das biomassas; onde nos demais tratamentos (0,1M e 0,3M) ocorreram apenas o início da floculação.

Torbey et al (2010) ao avaliar as diversas formas de obtenção da biomassa da microalga *Dunaliella salina* (Centrifugação, Floculação (FeCl₃ e NaOH) e Sedimentação) observaram que ao utilizar 1,0M de NaOH obtiveram a floculação total da cultura, valor molar superior ao utilizado nesse trabalho.

Astolfi (2011), segregando biomassa algal, para a espécie *Nannochloropsis oculata*, com Hidróxido de Sódio para as mesmas condições físico-químicas desse bioensaio fez uso de 2,0M para floculação total da cultura, valor superior ao utilizado nesse experimento.

Xu et al (2006) ao cultivar a microalga *Chlorella protothecoids* em ambiente heterotrófico e enriquecido com hidrolisado de milho obteve uma alta densidade algal, chegando a biomassa seca, com peso de 15,5g/L, valor superior ao encontrado nesse trabalho que na maior densidade algal onde alcançou uma biomassa seca de $0,1200 \pm 0,0010$ g/L.

Schneider (2006), avaliando o crescimento de microalgas da divisão Chlorophyta em fotobiorreator obteve um peso de biomassa seca de 0,60g/L, valor superior ao observado neste trabalho.

Comparação entre as diferentes concentrações do agente floculante Cloreto Férrico (FeCl_3)

Quando avaliado o cloreto férrico, observou-se floculação em todos os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. pH (Média±DP), Peso da biomassa obtida (Média±DP) das diferentes concentrações do agente floculante Cloreto Férrico (FeCl_3)

Table 2. pH(Means±SD), Weight biomass obtained (Means±SD) of different concentrations of chloride ferric (FeCl_3) flocculating agent

Concentração Molar	pH Médio ± DP	Peso Médio ± DP (g/L)
0,1M	$7,2 \pm 0,77^a$ *	$0,125 \pm 0,0047^a$ *
0,3M	$7,62 \pm 0,87^a$	$0,117 \pm 0,0044^a$
0,5M	$7,77 \pm 0,89^a$	$0,1217 \pm 0,0032^a$
0,9M	$8,82 \pm 0,59^b$	$0,1144 \pm 0,0032^b$

*Letras iguais representam igualdades estatísticas ($p > 0,05$)

Houve diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$), com a melhor floculação a uma concentração molar de 0,5M.

Santos (2011), ao avaliar a floculação da microalga marinha *Nannochloropsis oculata*, obteve a floculação em um pH ligeiramente ácido (pH=6.89), valor oposto ao encontrado nesse trabalho que variou de pH= 7.2 a 8.82. Este autor avaliando a floculação com diferentes agentes floculantes observou uma melhor floculação com o cloreto férrico o que foi corroborado com esse trabalho.

Ndiongue et al (2000), avaliando o floculante cloreto férrico para tratamento de efluentes obtiveram sucesso com basicidade, confirmando os resultados obtidos no presente estudo.

Torbey (2010), fazendo uso do cloreto férrico a 0,3M para a microalga *Dunaliella salina* também obteve bons resultados, colaborando com esse resultado.

Pulz (2007), fazendo uso de fotobioreatores no cultivo de Chlorophytas obteve um valor de biomassa seca de 0,1g/L, corroborando com esse resultado.

Sato et al (2005), cultivando a microalga *Chlorella sp.* em fotobiorreatores obtiveram uma biomassa seca de 0,251g/L, valor superior ao encontrado nesse trabalho.

Comparação entre as diferentes concentrações do agente floculante Policloreto de Alumínio (PAC)

Em relação o Policloreto de alumínio notou-se uma segregação em todos os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. pH (Média±DP), Peso da biomassa obtida (Média±DP) das diferentes concentrações do agente floculante Policloreto de Alumínio (PAC)

Table 3. pH(Means±SD), Weight biomass obtained (Means±SD) of different concentrations of Poly Aluminium Chloride (PAC) flocculating agent

Concentração Molar	pH Médio ± DP	Peso Médio ± DP (g/L)
0,1M	7,56±0,25 ^{a*}	0,1183±0,0015 ^{a*}
0,3M	8,0±0,45 ^a	0,1160±0,0026 ^{ab}
0,5M	8,3±0,30 ^a	0,1240±0,0036 ^{ab}
0,9M	8,4±0,36 ^a	0,1203±0,0025 ^a

*Letras iguais representam igualdades estatísticas (p>0,05)

Não houve diferença entre os tratamentos (P=0,0734), sendo observada, através do peso da biomassa obtida que os tratamentos que obtiveram os melhores resultados foram os que utilizaram uma concentração molar de 0,5M e 0,9M.

Santos et al (2010) ao utilizar o Policloreto de alumínio em diferentes molalidades (0,1M; 0,2M e 0,3M) para a floculação da microalga *Scenedesmus quadricauda*, obteve a floculação das culturas, corroborando com o resultado desse bioensaio.

O policloreto de Alumínio (PAC) além de ser utilizado como segregador de biomassa algal com finalidade para produção de produtos biotecnológicos, o mesmo é

muito utilizado em indústrias para tratamento de água, pois tem maior eficiência em clarificação da água nas fábricas (LIMA E REALLI, 1997); e um ótimo agente floculante para obtenção da floculação em qualquer faixa de pH (PRATI, MORETTI e CARDELLO, 2005).

Em relação à velocidade de decantação da microalga *Chlorella vulgaris* foi observado um total de 160 minutos, onde foram formados flocos grandes e pesados, o que corrobora com Silva e Torrezão (2011), que ao utilizar o PAC nas Estações de Tratamento de água (ETA's) das indústrias sucroalcooleiras, observou remoção eficientemente da carga orgânica e inorgânica do líquido a ser tratado; formação de flocos grandes e pesados, elevando a velocidade de decantação.

Costa et al (2006), ao cultivar a microalga *Chlorella minutíssima*, fazendo o uso de fertilizantes (N,P e K), a uma relação 5N:1P, relação igual a utilizado nesse trabalho, estes autores obtiveram uma biomassa seca de 1,53g/L, valor superior ao encontrado nesse trabalho.

Comparação entre os agentes floculantes

Houve diferença significativa em todos os valores de pH ($p < 0,05$), sendo observado maior valor de pH com o uso de Hidróxido de Sódio como floculante (Tabela 4), o que proporcionou a floculação total das unidades experimentais. Soares (2010) em estudo com a microalga *Nannochloropsis oculata*, observou que ao utilizar o hidróxido de sódio a 1,0M obteve floculação algal total, valor inferior ao presente trabalho, que nas mesmas condições utilizou 2x menos reagentes na floculação.

Tabela 4. Agentes floculantes em relação aos valores médios de pH (Média±DP) e Peso da biomassa obtida (Média±DP)

Table 4. Flocculating agents in relation to average pH (Means±SD) and Weight biomass obtained (Means±SD)

Agente Floculante (Concentração Molar)	pH Médio ± DP	Peso Médio± DP(g.L)
Policloreto de Alumínio (0,5M)	8,04±0,62 ^{a*}	0,1170±0,0046 ^{a*}
Hidróxido de Sódio (0,5M)	11±0,37 ^b	0,1360±0,0036 ^b
Cloreto Férrico (0,5M)	9,85±0,22 ^c	0,1250±0,0035 ^c

*Letras iguais representam igualdades estatísticas

Marinho (2011), ao avaliar a floculação da microalga *Scenedesmus subspicatus*, utilizando uma alta molalidade (2,0M) obteve valores superiores para o floculante PAC que ao utilizar 1 mL da solução padrão de 1,0M obteve a floculação total da cultura.

Para o hidróxido de sódio o mesmo autor não alcançou floculação total, em uma solução padrão de 1,0M, valor superior ao utilizado neste experimento.

Souza et al (2011), ao avaliar o efeito de diferentes flocculantes para a microalga *Chlorella vulgaris* utilizando a concentração de 2,0 M de hidróxido de sódio, e 1,0 M de Policloreto de Alumínio, não obteve a floculação para o hidróxido de sódio, porém para o Policloreto de Alumínio houve floculação total. Diferindo do resultado deste estudo, o que pode ser justificado pela diferença do pH inicial, que neste trabalho foi de 7, enquanto no estudo realizado pelo autor foi de 7.9.

Carrara (2000), ao utilizar Cloreto Férrico obteve a floculação algal através de altos valores de dosagem em torno de 2,0 M, valor bem superior ao encontrado nesse trabalho. Além disso, a floculação com o hidróxido de sódio apresenta uma grande vantagem: após a separação da biomassa, o sobrenadante pode ser neutralizado com ácido clorídrico, permitindo a sua reutilização após a adição de um pequeno volume de meio de cultivo fresco (HORIUCHI et al., 2003).

Miranda (2011), ao cultivar a microalga *Scenedesmus obliquus* em fotobiorreatores fechados, o mesmo obteve uma biomassa seca de 0,37g/L, valor superior ao encontrado nesse trabalho. Porém este autor encontrou em alguns tratamentos uma biomassa seca de 0,11g/L valor que corrobora com esse resultado.

CONCLUSÃO

A utilização de Hidróxido de Sódio como agente flocculante é indicado por elevar rapidamente o pH da cultura ($11,00 \pm 0,37$), ocorrendo assim a aglutinação e a decantação das células em um curto espaço de tempo, reaproveitamento da água do cultivo, através da neutralização da mesma, com utilização de ácido clorídrico (HCl) e alto peso da biomassa seca ($0,1360 \pm 0,0036$ g/L).

LITERATURA CITADA

Astolfi, V.R. Ruschel, C. K.; Alifantes, J.; Produção limpa de biodiesel usando a microalga *Nannochloropsis oculata*. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/arquivos/jovem/75prodbiodiesel.pdf>> Acesso em 12 de Novembro de 2012.

Bao, X. K., Liu, C., Fang, J., LI, X. Structural and immunological studies of a major polysaccharide from spores of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Carbohydrate Research. v. 332, p. 67-74, 2001

Biodiesel Production. Bioenergy Research, 1(1): 20-43. doi:10.1007/s12155-008-9008-8, 2008

Borgheti, I. A.; Avaliação do crescimento da microalga *Chlorella minutíssima* em meio de cultura com diferentes concentrações de manipuladora. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 103p, 2009. Dissertação de Mestrado.

Brennan, L.; Owende, P. Biodiesel from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2009.

Cardoso, M. Efeito do tipo de coagulante na produção de lodo de estação de tratamento de água. Dissertação de Mestrado. Engenharia Ambiental – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.2003

Carrara, S. Estudos de Viabilidade do Reuso de Efluentes Líquidos Gerados em Processos de Galvanoplastia por Tratamento Físico-Químico.Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP,. 119 p. 2007 Tese (Mestrado).

Costa, J.A.; Radmann, E.M.; Cerqueira, V.S.; Santos; Calheiros, M.N; Perfil de ácidos graxos das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Chlorella minutíssima* cultivadas em diferentes condições. Alim. Nutr., Araraquara, V.17, n.4, p. 429-436, 2006.

CPRH, COMPANHIA PERNAMBUCANA DO MEIO AMBIENTE. Roteiro Complementar de Licenciamento e Fiscalização: Tipologia Galvanoplastia. Recife:CPRH/GTZ. 2001.

Dvir, I., Chayoth, R., Sod-Moriah, U., Shany, S., Nyska, A., Stark, H. A., Madar, Z., Arad, S. Soluble polysaccharide and biomass of red microalga *Porphyridium* sp. alter intestinal morphology and reduce serum cholesterol in rats. British Journal of Nutrition. v. 84, p. 469-476, 2000.

Horiuchi, J.; Ohba, I.; Tada, K.; Kobayashi, M.; Kanno, T.; Kishimoto, M. Effective Cell Harvesting of the Halotolerant Microalga *Dunaliella tertiolecta* with pH Control. Journal of Bioscience and Bioengineering, n. 4, v. 95, p. 412-415, 2003.

Kerby, N.W.; Stewart, D.P. The biotechnology of microalgae and cyanobacteria. En: ROGERS LJ, GALLON JR. (eds). Biochemistry of the algae and Cyanobacteria. *Proceedings of the Phytochemical Society*

Klok, A. Optimization of lipid production in microalgae, Wageningen University... 2010

LIMA, M. R. A; REALI, PENALVA.M. A. Tratamento físico-químico das águas residuárias de uma indústria de papel utilizando-se a flotação por ar dissolvido. Anais

do XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Foz do Iguaçu/PR: 1997.

Marinho, Y. F. Efeito de diferentes floculantes na eficiência de obtenção de biomassa da microalga *Scenedesmus subspicatus* (Chodat, 1926), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011. 25p... Trabalho de conclusão de curso

Mayo, A. Effects of temperature and pH on the kinetic growth of unialga *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria. *Water environment Research*. 69 (1): 64-72, 1997.

Mayo, A.W.; Noike, T. Response of mixed cultura of *Chlorella vulgaris* e heterotrophic bacteria to varia of pH. In: Pergamon. *Wat. Sci. Tech*, Vol 30. *, 285-294, 1994.

Miranda, J.R.P.C.; Produção de bioetanol a partir da microalga *Scenedesmus obliquus*. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011. 130p.. Dissertação de Mestrado.

Ndiongue, S. Desjardins, R., Prévost, M. The use of jar-filtration tests to compare performances of coagulants in direct filtration. *Environmental Technology*, Vol. 21, pp 67-76, 2000

Ohse, S., Dener, R.B., Ozorio, R.A., Braga, M.V.C., Cunha, P., Lamarca, C.P., Santos, M.E.; Crescimento de Microalgas em sistema autotrófico estacionário. *Biotemas*, 21 (2): 7-18, 2008.

Prati, P.; Moretti, R. H.; Cardello, H. M. A. B.. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e suco de frutas ácidas. *Revista de Ciências e Tecnologia de Alimentos*. Campinas/SP: 2005. p. 23.

Pulz, O. Evaluation of green fuel's 3D matrix algal growth engineering scale unit. APS red hawk unit AZ, IGV Institut für Getreideverarbeitung, gmbH, June-July, 2007.

Pulz, O.; Gross, W. Valuable products from biotechnology microalgae. *Applied Microbiology Biotechnology*, v.65, n.6, p.635-648, 2004. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/gbbkaptetj1n76h3/fulltext.html>>. Acesso em: 22 julho. 2012. doi: 10.1007/s002530100702.

Russo, D.A.M.T Estudo do crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* numa água residual tratada, sob diferentes condições de Fotoperíodo e temperatura. 2011. 111p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia. Lisboa, Portugal.

Santos, A.P.F. Efeito de diferentes floculantes na microalga marinha *Nannochloropsis oculata* (Hibberd, 1981). , Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011. 24p... Trabalho de conclusão de curso

Santos, A.P.F.; *et al* 2010 Diferentes concentrações de agente floculante na microalga *Scenedesmus quadricauda*. X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (JEPEX), Anais de Evento, 2010.

Sato, T.; Usui, S.; Tsuchiya, Y.; Kondo, Y.; Invention of outdoor closed type photobioreactor for microalgae. Department of environmental studies, University of Tokyo, 7-3-1- Hongo, Bunkyo-Ku, Tokyo 113-8656, Japan, 2005.

Schenk, P. M., S. R. Thomas-Hall, E. Stephens, U. C. Marx, J. H. Mussgnug, C. Posten, O. Kruse e B. Hankamer. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *Bioenergy Research*, 1(1): 20-43. doi:10.1007/s12155-008-9008-8, 2008

Schneider, D. Grow your own?: Would the Wide spread adoption of biomass-derived Transportation fuels really help the environment, *American Scientist*, Vol 94, pp. 408-409, 2006.

Silva, J.W.P.; Torrezão, M.E.; Estudo sobre a utilização do policloreto de alumínio para a garantia da Qualidade das águas de processo no setor sucroalcooleiro. Disponível em <<www.fazu.br/capa>>v.2(2011)>DASILVA> > Acesso em 14 de novembro de 2012.

Soares, D. Avaliação do crescimento celular e a produtividade de lipídeos de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo. Universidade Federal do Paraná. Curitiba,. 61 p . 2010 Tese (Mestrado)

Souza, A.B. Efeito Cultivo da Microalga *Chlorella vulgaris* em diferentes meios, visando óleo para obtenção de biodiesel. , Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009. 25p... Trabalho de conclusão de curso

Souza, N.A., Santos, A.P.F., Nascimento, R.D.M, Marinho, Y.F., Dantas, D.M.M., Galvez, A.O., Efeito de diferentes flocculantes na floculação da microalga *Chlorella vulgaris*, XI Jornada de Ensino, pesquisa e extensão, UFRPE, Recife-PE

Stein, J. Handbook of phycological methods; Culture methods and growth measurements. Cambridge University Press, 1973. 447p.

Talyshinsky, M., Souprun, Y., Huleihel, M. Anti-viral activity of red microalgal polysaccharides against retroviruses. *Cancer Cell International*. v. 2, 2002.

Torbey, B. I.; Soares, A. V. H.; Monteiro, L. P. C.; Thomaz, D. M.; Senna, F. M. M. Métodos de separação de biomassa de microalgas para a produção de biodiesel. Disponível em:<oleo.ufla.br> Acesso em 12 de Novembro de 2012.

Vinatea Arana, L; Fundamentos de Aquicultura. Florianópolis: Ed. Da UFSC, 2004. 91p.

Xu, H; Miao, X. and Q. Wu, High quality Biodiesel Production from a Microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic Growth in Fermenters, *Journal of Biotechnology*, Vol 126, pp. 499-507, 2006.

5.1- Normas da Revista Brasileira de Ciências Agrárias

Diretrizes para Autores

Objetivo e Política Editorial

A Revista Brasileira de Ciências Agrárias (RBCA) é editada pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) com o objetivo de divulgar artigos científicos, para o desenvolvimento científico das diferentes áreas das Ciências Agrárias. As áreas contempladas são: Agronomia, Engenharia Agrícola, Engenharia Florestal, Engenharia de Pesca e Aquicultura, Medicina Veterinária e Zootecnia. Os artigos submetidos à avaliação devem ser originais e inéditos, sendo vetada a submissão simultânea em outros periódicos. A reprodução de artigos é permitida sempre que seja citada explicitamente a fonte.

Forma e preparação de manuscritos

O trabalho submetido à publicação deverá ser cadastrado no portal da revista (<http://www.agraria.pro.br/sistema>). O cadastro deverá ser preenchido apenas pelo autor correspondente que se responsabilizará pelo artigo em nome dos demais autores.

Só serão aceitos trabalhos depois de revistos e aprovados pela Comissão Editorial, e que não foram publicados ou submetidos em publicação em outro veículo.

Excetuam-se, nesta limitação, os apresentados em congressos, em forma de resumo.

Os trabalhos subdivididos em partes 1, 2..., devem ser enviados juntos, pois serão submetidos aos mesmos revisores. Solicita-se observar as seguintes instruções para o preparo dos artigos.

Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente deve apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.

Composição sequencial do artigo

- a. Título: no máximo com 15 palavras, em que apenas a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula.
- b. Os artigos deverão ser compostos por, no máximo, 6 (seis) autores;
- c. Resumo: no máximo com 15 linhas;
- d. Palavras-chave: no mínimo três e no máximo cinco, não constantes no Título;
- e. Título em inglês no máximo com 15 palavras, ressaltando-se que só a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula;
- f. Abstract: no máximo com 15 linhas, devendo ser tradução fiel do Resumo;
- g. Key words: no mínimo três e no máximo cinco;
- h. Introdução: destacar a relevância do artigo, inclusive através de revisão de literatura;
- i. Material e Métodos;

j. Resultados e Discussão;

k. Conclusões devem ser escritas de forma sucinta, isto é, sem comentários nem explicações adicionais, baseando-se nos objetivos da pesquisa;

l. Agradecimentos (facultativo);

m. Literatura Citada.

Observação: Quando o artigo for escrito em inglês, o título, resumo e palavras-chave deverão também constar, respectivamente, em português ou espanhol, mas com a sequência alterada, vindo primeiro no idioma principal.

Edição do texto

a. Idioma: Português, Inglês e Espanhol

b. Processador: Word for Windows;

c. Texto: fonte Times New Roman, tamanho 12. Não deverá existir no texto palavras em negrito;

d. Espaçamento: duplo entre o título, nome(s) do(s) autor (es), resumo e abstract; simples entre item e subitem; e no texto, espaço 1,5;

e. Parágrafo: 0,5 cm;

f. Página: Papel A4, orientação retrato, margens superior e inferior de 2,5 cm, e esquerda e direita de 3,0 cm, no máximo de 20 páginas não numeradas;

g. Todos os itens em letras maiúsculas, em negrito e centralizados, exceto Resumo, Abstract, Palavras-chave e Key words, que deverão ser alinhados à esquerda e apenas as primeiras letras maiúsculas. Os subitens deverão ser alinhados à esquerda, em negrito e somente a primeira letra maiúscula;

h. As grandezas devem ser expressas no SI (Sistema Internacional) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais de cada área em questão;

i. Tabelas e Figuras (gráficos, mapas, imagens, fotografias, desenhos)

- Títulos de tabelas e figuras, para artigos escritos em português ou espanhol, deverão ser escrito em fonte Times New Roman, estilo normal e tamanho 9. A tradução em inglês deverá ser inserida logo abaixo com fonte Times New Roman, estilo itálico e tamanho 8. Para artigos escritos em Inglês, as traduções podem ser realizadas em português ou espanhol;

- As tabelas e figuras devem apresentar larguras de 9 ou 18 cm, com texto em fonte Times New Roman, tamanho 9, e ser inseridas logo abaixo do parágrafo onde foram citadas pela primeira vez. Exemplo de citações no texto: Figura 1; Tabela 1. Tabelas e figuras que possuem praticamente o mesmo título deverão ser agrupadas em uma tabela

ou figura criando-se, no entanto, um indicador de diferenciação. A letra indicadora de cada sub-figura numa figura agrupada deve ser maiúscula e com um ponto (exemplo: A.), e posicionada ao lado esquerdo superior da figura e fora dela. As figuras agrupadas devem ser citadas no texto da seguinte forma: Figura 1A; Figura 1B; Figura 1C.

- As tabelas não devem ter tracejado vertical e o mínimo de tracejado horizontal. Exemplo do título, o qual deve ficar acima: Tabela 1. Estações do INMET selecionadas (sem ponto no final). Em tabelas que apresentam a comparação de médias, mediante análise estatística, deverá existir um espaço entre o valor numérico (média) e a letra. As unidades deverão estar entre parêntesis.

- As figuras não devem ter bordadura e suas curvas (no caso de gráficos) deverão ter espessura de 0,5 pt, e ser diferenciadas através de marcadores de legenda diversos e nunca através de cores distintas. Exemplo do título, o qual deve ficar abaixo: Figura 1. Perda acumulada de solo em função do tempo de aplicação da chuva simulada (sem ponto no final). Para não se tornar redundante, as figuras não devem ter dados constantes em tabelas. Fotografias ou outros tipos de figuras deverão ser escaneadas com 300 dpi e inseridas no texto. O(s) autor (es) deverá (ão) primar pela qualidade de resolução das figuras, tendo em vista uma boa reprodução gráfica. As unidades nos eixos das figuras devem estar entre parêntesis, mas, sem separação do título por vírgula.

Exemplos de citações no texto

- a. Quando a citação possuir apenas um autor: ... Freire (2007) ou ... (Freire,2007).
- b. Quando possuir dois autores: ... Freire & Nascimento (2007), ou ... (Freire & Nascimento, 2007).
- c. Quando possuir mais de dois autores: Freire et al. (2007), ou (Freire et al., 2007).

Literatura citada

A citação dos artigos relacionados com o tema do trabalho publicados anteriormente na Revista Brasileira de Ciências Agrárias, não é obrigatória, porém é recomendável. O corpo editorial da revista poderá sugerir a inclusão de alguma referência significativa se julgar oportuno.

O artigo deve ter, preferencialmente, no máximo 25 citações bibliográficas, sendo a maioria em periódicos recentes (últimos cinco anos).

As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

As referências citadas no texto deverão ser dispostas em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor e conter os nomes de todos os autores, separados por ponto e vírgula. As citações devem ser, preferencialmente, de publicações em periódicos, as quais deverão ser apresentadas conforme os exemplos a seguir:

a. Livros

Mello, A.C.L. de; Vêras, A.S.C.; Lira, M. de A.; Santos, M.V.F. dos; Dubeux Júnior, J.C.B; Freitas, E.V. de; Cunha, M.V. da . Pastagens de capim-elefante: produção intensiva de leite e carne. Recife: Instituto Agrônômico de Pernambuco, 2008. 49p.

b. Capítulo de livros

Serafim, C.F.S.; Hazin, F.H.V. O ecossistema costeiro. In: Serafim; C.F.S.; Chaves, P.T. de (Org.). O mar no espaço geográfico brasileiro. Brasília- DF: Ministério da Educação, 2006. v. 8, p. 101-116.

c. Revistas

Sempre que possível o autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers). Costa, R.B. da; Almeida, E.V.; Kaiser, P.; Azevedo, L.P.A. de; Tyszka Martinez, D. Tsukamoto Filho, A. de A. Avaliação genética em progênies de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. na região do Pantanal, estado do Mato Grosso. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.6, n.4, p.685-693, 2011.
<<http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=v6i4a1277&path%5B%5D=990>> 29 Dez. 2011.
doi:10.5039/agraria.v6i4a1277

d. Citações no prelo (aceitas para publicação) devem ser evitadas.

Brandão, C.F.L.S.; Marangon, L.C.; Ferreira, R.L.C.; Silva, A.C.B.L. e. Estrutura fitossociológica e classificação sucessional do componente arbóreo em um fragmento de floresta atlântica em Igarassu–Pernambuco. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 2009. No prelo.

e. Dissertações e teses

Bandeira, D.A. Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do estado da Paraíba. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. 116p. Tese Doutorado.

f. Trabalhos apresentados em congressos (Anais, Resumos, Proceedings, Disquetes, CD-ROMS) devem ser evitados.

Dubeux Júnior, J.C.B.; Lira, M. de A.; Santos, M.V.F. dos; Cunha, M.V. da . Fluxo de nutrientes em ecossistemas de pastagens: impactos no ambiente e na produtividade. In: Simpósio sobre o Manejo da Pastagem, 23, 2006, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 2006. v.único, p.439-506.

No caso de disquetes ou CD-ROM, o título da publicação continuará sendo Anais, Resumos ou Proceedings, mas o número de páginas será substituído pelas palavras Disquetes ou CD-ROM.

g. WWW (World Wide Web) e FTP (File Transfer Protocol)

Burka, L.P. A hipertext history of multi-user dimensions; MUD history.
<http://www.ccs.neu.edu/home/lpb/mud-history-html>. 10 Nov. 1997.

h. Citações de comunicação pessoal deverão ser referenciadas como notas de rodapé, quando forem imprescindíveis à elaboração dos artigos.

Outras informações sobre a normatização de artigos

- 1) Os títulos das bibliografias listadas devem ter apenas a primeira letra da primeira palavra maiúscula, com exceção de nomes próprios. O título de eventos deverá ter apenas a primeira letra de cada palavra maiúscula;
- 2) O nome de cada autor deve ser por extenso apenas o primeiro nome e o último sobrenome, sendo apenas a primeira letra maiúscula;

- 3) Não colocar ponto no final de palavras-chave, key words e títulos de tabelas e figuras. Todas as letras das palavras-chave devem ser minúsculas, incluindo a primeira letra da primeira palavra-chave;
- 4) No Abstract, a casa decimal dos números deve ser indicada por ponto em vez de vírgula;
- 5) A Introdução deve ter, preferencialmente, no máximo 2 páginas. Não devem existir na Introdução equações, tabelas, figuras, e texto teórico sobre um determinado assunto;
- 6) Evitar parágrafos muito longos;
- 7) Não deverá existir itálico no texto, em equações, tabelas e figuras, exceto nos nomes científicos de animais e culturas agrícolas, assim como, nos títulos das tabelas e figuras escritos em inglês;
- 8) Não deverá existir negrito no texto, em equações, figuras e tabelas, exceto no título do artigo e nos seus itens e subitens;
- 9) Em figuras agrupadas, se o título dos eixos x e y forem iguais, deixar só um título centralizado;
- 10) Todas as letras de uma sigla devem ser maiúsculas; já o nome por extenso de uma instituição deve ter maiúscula apenas a primeira letra de cada nome;
- 11) Nos exemplos seguintes o formato correto é o que se encontra no lado direito da igualdade: 10 horas = 10 h; 32 minutos = 32 min; 5 l (litros) = 5 L; 45 ml = 45 mL; 1/s = L.s⁻¹; 27°C = 27 °C; 0,14 m³/min/m = 0,14 m³.min⁻¹.m⁻¹; 100 g de peso/ave = 100 g de peso por ave; 2 toneladas = 2 t; mm/dia = mm.d⁻¹; 2x3 = 2 x 3 (deve ser separado); 45,2 - 61,5 = 45,2-61,5 (deve ser junto). A % é unidade que deve estar junta ao número (45%). Quando no texto existirem valores numéricos seguidos, colocar a unidade somente no último valor (Exs.: 20 e 40 m; 56,0, 82,5 e 90,2%). Quando for pertinente, deixar os valores numéricos com no máximo duas casas decimais;
- 12) No texto, quando se diz que um autor citou outro, deve-se usar apud em vez de citado por. Exemplo: Walker (2001) apud Azevedo (2005) em vez de Walker (2001) citado por Azevedo (2005). Recomendamos evitar essa forma de citação.
- 13) Na definição dos parâmetros e variáveis de uma equação, deverá existir um traço separando o símbolo de sua definição. A numeração de uma equação deve estar entre parêntesis e alinhada esquerda. Uma equação deve ser citada no texto conforme os seguintes exemplos: Eq. 1; Eq. 4.;14) Quando o artigo for submetido não será mais permitida mudança de nome dos autores, seqüência de autores e quaisquer outras alterações que no sejam por solicitadas pelo editor.

Procedimentos para encaminhamento dos artigos

O autor correspondente deve se cadastrar como autor e inserir o artigo no endereço <http://www.agraria.ufrpe.br> ou <http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria>

O autor pode se comunicar com a Revista por meio do e-mail agrarias@prppg.ufrpe.br, editorgeral@agraria.pro.br ou secretaria@agraria.pro.br.