

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS DO SEMIÁRIDO
E LITORAL ALAGOANO VISANDO À PRODUÇÃO DE BODIESEL**

Elica Amara Cecilia **GUEDES**¹; Eveline da Silva Mendonça **RÊGO**²; Manoel Messias da Silva **COSTA**³; Victor Andrey Rodrigues **CARNEIRO**⁴; Alson David Rodrigues da **SILVA**⁵; Gabriel Louis **Le CAMPION**⁶; Renata Maria Rosas Garcia **ALMEIDA**⁷

¹Profa. Dra. Laboratório de Ficologia-ICBS/UFAL, Av. Lourival Melo Mota s/n-Tabuleiro dos Martins, CEP:57072-900, Maceió-AL, email: elica.guedes@icbs.ufal.br

²Graduada em Ciências Biológicas-Laboratório de Ficologia-ICBS/UFAL

³Prof. Dr. Faculdade de São Vicente-FASVIPA-Pão de Açúcar

⁴Graduando em Biologia-Laboratório de Ficologia-ICBS/UFAL

⁵Graduado em Engenharia Ambiental-Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos-LTBA-CTEC/UFAL

⁶Msc. Oceanografia-Setor de Ecologia/ICBS/UFAL

⁷Profa. Dra. Departamento de Engenharia Química-Centro de Tecnologia-CTEC/UFAL

Resumo: Biodiesel a partir de organismos unicelulares é tecnicamente viável quando as condições de cultivo são satisfatórias favorecidas por meios sintéticos e naturais que desempenham importantes funções para o crescimento das culturas e aumento da biomassa. As variáveis abióticas, como pH e temperatura, podem implicar no crescimento das espécies cultivadas. A referida pesquisa teve como objetivo ampliar os conhecimentos acerca de cultivos de microalgas em laboratório, a partir, de espécies isoladas e cultivadas em diferentes meios de cultivo (sintéticos/naturais) bem como a obtenção de óleos e lipídeos, por processos de extração com solvente “hexano”, e caracterização do óleos obtidos via “transesterificação. As microalgas foram obtidas por meio de arrastos horizontais subsuperficiais com duração de cinco minutos, com rede de plâncton de malha de 20µm, em açudes de regiões do Semiárido e tanques de cultivo de tilapia na praia de Ipioca. O material utilizado para identificação das microalgas, foi fixado em formol neutro a 4%. As amostras destinadas ao cultivo, foram transportadas assepticamente sob aeração. O filo Chlorophyta foi o melhor representado com 45 táxons (64%). Verificamos que as microalgas quando cultivadas em laboratório sob condições controladas e meios sintéticos em quantidades adequadas, podem favorecer o crescimento satisfatório das culturas, a depender da espécie cultivada. Dentre as clorofíceas, foi possível o isolamento dos gêneros *Desmodesmus* sp., e *Westella botryoides* (West) De Wildeman. Os meios utilizados influenciaram sobre as taxas de crescimento das microalgas cultivadas. Os percentuais de óleo e lipídeos das amostras, foram de 2,63% e 96,68%, respectivamente.

Palavras-chave: Biocombustível; Fitoplâncton; Biotecnologia.

**EVALUATION OF THE PRODUCTION PROCESS OF MICROALGAS REGARDING
THE PRODUCTION OF BODIESEL**

Abstract: The text focuses on how the incorporation of the elements of the indigenous culture in the didactic book of Physics will represent, in a meaningful or not learning by the indigenous students of the Extreme South of Bahia. Within this context, I bring as a problem, Biodiesel from single-celled organisms is technically feasible when the conditions of cultivation are satisfactory by synthetic and natural means that play important roles in growing crops and increasing biomass. Abiotic variables such as pH and temperature may imply the growth of cultivated species. The objective of this research was to increase knowledge about microalgae cultures in the laboratory, from isolated species and cultivated in different culture media (synthetic / natural), as well as the production of oils and lipids, by solvent extraction "Hexane", and characterization of the oils obtained via "transesterification". The microalgae were obtained by means of horizontal subsurface trawls lasting five minutes, with mesh of plankton of 20µm, in reservoirs of regions of the Semiarid region and tilapia culture tanks in the beach of Ipioca. The material used to identify the microalgae was fixed in neutral formol at 4%. The samples destined to the culture were transported aseptically under aeration. The Chlorophyta filo was the best represented with 45 taxa (64%). We verified that microalgae when grown in the laboratory under controlled conditions and synthetic media in adequate amounts may favor satisfactory crop growth, depending on the species cultivated. Among the chlorophytes, it was possible to isolate the genus *Desmodesmus* sp., And *Westella botryoides* (West) De Wildeman. The media used influenced the growth rates of cultured microalgae. The oil and lipid percentages of the samples were 2.63% and 96.68%, respectively

Keywords Biofuel; Fitoplancton; Biotecnology.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo do século XX, as interações entre o progresso técnico-científico e o crescimento demográfico das cidades fez com que a relação entre o homem e a natureza chamasse a atenção para o uso sustentável dos recursos naturais e para o estabelecimento de formas não destrutivas ao meio ambiente (SALES e SALES, 2010).

No semiárido brasileiro grande parte de seus micro e pequenos açudes são usados prioritariamente para dessedentação animal, obrigando o abastecimento humano a ser realizado por fontes externas (por exemplo, cisternas de placa). O livre acesso do gado aos reservatórios vem causando grandes prejuízos aos demais usos e usuários, problema que se torna mais grave quando o reservatório é usado para o abastecimento humano. A preocupação específica com relação ao clima diz respeito ao aquecimento global ("efeito estufa"), que é gerado pelo excesso de emissão de CO₂ na atmosfera. Grande parte deste excesso deriva do modelo energético global, cuja matriz tem como fonte principal de matéria-prima os recursos naturais não-renováveis, especialmente o petróleo (AMIN, 2009; MATTEI, 2010; ARAÚJO, 2011).

O biodiesel pode ser produzido a partir de uma grande variedade de matérias-primas. Sendo, estas matérias-primas mais comuns os óleos vegetais (soja, algodão,

palma, amendoim, colza/canola, girassol, cártamo, coco) e gorduras animais (sebo), bem como óleos de resíduos (óleos usados em frituras) (KNOTHE, 2005).

Dentre as novas matérias-primas usadas na obtenção de óleo destinado à produção de biodiesel, as microalgas emergiram como uma das fontes mais promissoras, por duas razões principais: o rendimento em óleo das microalgas é muito mais alto do que o melhor rendimento obtido com as oleaginosas tradicionais; as microalgas podem crescer em lugares que não sejam terras agrícolas e florestas, minimizando assim os danos causados aos ecossistemas e à produção de alimentos (PEQUENO, 2010).

Aparentemente, há poucos estudos realizados com a performance das microalgas para biocombustível, devido à limitação de dados mais abrangentes. Portanto, os parâmetros relacionados com a produção de biocombustíveis de microalgas como a produtividade da biomassa, teor de lipídios e de eficiência energética a jusante (colheita, secagem e transesterificação) são obtidos com base puramente em escala experimental de dados de laboratório. Embora os dados obtidos de estudos em escala laboratorial possam ser irrelevantes quando aplicados a produção em larga escala, no entanto, a maioria dos estudos conclui que a produção de biocombustíveis a partir de microalgas é um processo energético extremamente intensivo. Dentro do contexto de expansão energética no país, com a produção de energia através das microalgas torna-se uma alternativa possivelmente viável, tendo em vista as condições propícias de temperatura e a grande costa litorânea brasileira uma vez que os recursos para a montagem de biomassa fotoautotrófica, vão além das necessidades de luz e do carbono (REYNOLDS, 2006; HOLANDA et al., 2011; LAM e LEE, 2012).

O cultivo de microalgas é praticado há cerca de 140 anos, acompanhando os progressos nas áreas de Ciências Ambientais, da Fisiologia e da Microbiologia (LOURENÇO, 2006). Os métodos envolvendo impactos em cultivo de algas em laboratório e sua importância em particular para o avanço da ficologia, e da biologia em geral, foram resumidos por BOLD e WYNNE (1985).

O referido estudo, teve como objetivo aprofundar os conhecimentos a respeito do cultivo de microalgas em laboratório, no que diz respeito a capacidade de assimilação de meios sintéticos e naturais exigidos com potencial para produção de óleos e lipídeos sendo avaliado o seu crescimento em diferentes meios: naturais e sintéticos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado utilizando material (microalgas e água) coletadas em regiões do Semiárido Alagoano (Campo Alegre e Anadia), litoral centro (Lagoa Mundaú) em Maceió e litoral norte (tanques de cultivo de tilápia em Ipioca) durante os meses de setembro/2010 e setembro/2011.

No açude de Anadia as coletas foram efetuadas entre as coordenadas 9° 42' 7,62" S e 36° 19' 52,5" W, um ambiente com características típicas de ambientes eutrofizados, com grande concentração de macrófitas aquáticas, circundando toda sua extensão. No açude Campo Alegre as coletas foram efetuadas entre as coordenadas 9° 47' 13,96" S e 36° 21' 10,98" W, na fazenda Vista Alegre que fica situada em uma área de perímetro urbano, com ambiente também com características típicas de áreas eutrofizadas, apresentando possivelmente alto índice de poluição, devido a poluentes provenientes de efluentes de esgotos domésticos, que se encontram as margens do local.

As amostras de água para coleta de microalgas foram obtidas por meio de arrastos subsuperficiais e horizontais, utilizando rede de plâncton de abertura de malha de 20µm, com duração de cinco minutos. Em seguida, o material coletado foi fixado em campo, com formol neutralizado a 4%. Posteriormente em laboratório este material foi destinado à identificação do fitoplâncton, utilizando microscópio óptico binocular (Olympus BX41).

Para o cultivo de microalgas em laboratório, foi efetuado coletas com a mesma metodologia já mencionada sendo, o material transportado "*in vivo*" mantido sob refrigeração em uma caixa de isopor com gelo. Utilizou-se bombas de aquário para aeração das amostras, até o Laboratório de Cultivo de Microalgas (LCMA) do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Na sede da associação de pescadores denominada "Anjos do Mar", situada em Ipioca-AL três tanques (1, 2 e 3), com paredes de alvenaria e capacidade de 2000L de água eram utilizados para criação de peixes tilápia (*Oreochromis niloticus*). Nos tanque, a piscicultura era efetuada, separando os alevinos, de acordo com o tamanho sendo mantidos sobre regime de constante renovação de água, e estabelecendo conexões entre si. As coletas de microalgas nos tanques ocorreram nos meses de janeiro/fevereiro de 2012. Foram retiradas duas amostras para cada tanque em garrafas com capacidade de 500 mL⁻¹ e 1500 mL⁻¹. Foi realizada uma filtragem com rede de plâncton de malha de 20 µm. O material obtido da filtragem foi reservado em um balde com capacidade de

20L, procedimento este repetido em cada tanque (T₁ - tanque 1, T₂ - tanque 2 e T₃ - tanque 3). Esta metodologia de coleta, foi diferenciada das anteriores sem contudo impactar e causar estresse aos peixes, presentes nestes tanques.

As amostras obtidas dos tanques foram denominadas de amostras concentradas (C₁, C₂ e C₃) com a água que ficou retida na rede de plâncton e amostras filtradas (F₁, F₂ e F₃) a água que passou pela rede e ficou reservada no balde, totalizando seis amostras. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em frascos e mantidas “*in vivo*” sob regime de constante aeração utilizando bombas de aquário. As amostras que se destinavam ao cultivo em laboratório, foram mantidas em frascos autoclavados e transportados assepticamente em caixa de isopor, ao Laboratório de Cultivo de Microalgas (LCMA) do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Na Lagoa Mundaú, situado entre as coordenadas S 9°41' 11.75" S e 35° 46' 17.39" W, as coletas de água foram efetuadas no mês de outubro/ 2011. A água coletada foi utilizada posteriormente, para enriquecimento das culturas em laboratório e foi denominada neste estudo, de meio natural em substituição ao meio sintético e foi utilizada na inoculação do cultivo das amostras provenientes das coletas nos açudes de Campo Alegre e Anadia-AL

A temperatura (°C) e o Potencial hidrogeniônico (pH) da água do cultivo de microalgas, foram mensurados utilizando medidor de pH digital LABMETER (modelo PH₂-PHS-3B).

Para análise do fitoplâncton, alíquotas de 1 mL⁻¹ de cada amostra proveniente das coletas, foram analisadas com auxílio de microscópio óptico binocular (Olympus BX41). Procedeu-se análise direta das microalgas, em objetiva de (aumento 20 e 40x). A identificação e classificação dos táxons foram determinadas através de bibliografias especializadas: Peragallo e Peragallo (1897-1908), Cupp (1943), Hustedt (1930, 1959, 1961-1966), Round (1971), Prescott (1975), Horecká e Komárek (1979), Komárek (1984, 1991), Sournia (1986), Komárek e Anagnostidis (1986, 1989), Streble e Krauter (1987), Ricard (1987), Taylor (1987), Anagnostidis e Komárek (1988), Komárek e Kovácik (1989), Anagnostidis e Komarek (1990), Silva-Cunha e Eskinazi-Leça (1990), Parra e Bicudo (1995), Moreno et al., (1996), Thomas (1997), Komarek e Anagnostidis (1998), Komárek et al., (2003) e Komarek e Anagnostidis (2005).

Foi utilizado o Sistema de Classificação de Round et al., (1990) para enquadramento taxonômico das diatomáceas e o de Steindinger e Tangen (1997) para

os dinoflagelados. Os critérios para refinamento da identificação e os nomes científicos de espécies foram checados junto ao banco de dados internacional ALGAEBASE (<http://www.algaebase.org/>).

Através da análise das amostras, foram determinadas e abundancia relativa do fitoplâncton:

2.1 Abundância relativa (A.R) de cada táxon – Após a identificação, foram realizadas contagens dos organismos e calculada a abundância relativa de cada táxon, utilizando a fórmula: $A=N \times 100/n$ onde, N = n° de espécies na amostra; n = n° total de espécies, sendo estabelecidos os seguintes critérios: dominante – ocorrência maior do que 50%; abundante – ocorrência entre 50 e 30%; pouco abundante – ocorrência entre 30 e 10%; rara – menor de 10% (LOBO e LEIGHTON, 1986).

2.2 Estratégias de cultivo e produção de microalgas

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultivo de Microalgas (LCMA) no Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e teve início, em setembro de 2011.

As microalgas utilizadas com fins de cultivo, foram coletadas em campo, nos açudes de Anadia, Campo Alegre e Ipioca em criatórios de peixe tilápia (*Oreochomis niloticus*). A temperatura da sala durante o experimento de cultivo de microalgas foi mantida em torno de 25 ± 2 °C.

As culturas foram desenvolvidas com iluminação artificial (lâmpadas fluorescentes de 40 W), sendo submetidas a fotoperíodo integral e agitação (aeração) constantes, com um fluxo de ar atmosférico de $0,3 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$.

2.3 Meios de cultura

Para avaliar as taxas de crescimento das microalgas em laboratório foram testados diferentes meios artificiais: Provasoli (1968) (modificado), N.P.K. (Nitrogênio, Fósforo, Potássio), fertilizante foliar mineral misto e vitamina (citoneurin 5000) e naturais: húmus orgânico, fermento biológico, vinhoto de cana-de-açúcar, descritos nas (Tabelas 1, 2, 3 e 4). O preparo dos meios de cultura seguiu as técnicas padrões para microalgas.

No referido experimento, o meio Provasoli(1968) foi modificado, adequando-se, a concentração de cada reagente (solução principal e vitaminica), de acordo com a finalidade da cultura.

Tabela 1. Concentrações (mL⁻¹) dos compostos dos meios de cultura sintético I – Provasoli(1968) modificado utilizados para culturas de microalgas provenientes das coletas de Anadia e Campo Alegre-AL (Provasoli, 1968).

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO
Solução Principal	
(C ₃ H ₅ (OH)2PO ₄ Na ₂ .H ₂ O) Glicerofosfato de Sódio	10 g/200mL ⁻¹
(NaNO ₃) Nitrato de Sódio	7g/200mL ⁻¹
EDTA (Sal Dissódico P.A)	140g/200mL ⁻¹
Solução de Sais	
EDTA (Sal Dissódico P.A)	1 g/200mL ⁻¹
(H ₃ BO ₃) Ácido Bórico	1,12 mg/200mL ⁻¹
(FeCl ₂) Cloreto de Ferro	48 mg/200mL ⁻¹
(MnO ₂) Óxido de Manganês	120 mg/200mL ⁻¹
Co(NO ₃)2.6H ₂ O Nitrato de Cobalto	5 mg/200mL ⁻¹
Soluções vitamínicas	
Vitamina B ₁₂	25 mg/100mL ⁻¹
Tiamina	500 mg/100mL ⁻¹
Biotina	500 mg/100mL ⁻¹

Tabela 2. Meios de cultura (natural) enriquecido com vitaminas, utilizados culturas de microalgas provenientes das coletas de Anadia e Campo Alegre-AL.

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO
Soluções vitamínicas	
Vitamina B ₁₂	25 mg/100mL ⁻¹
Tiamina	500 mg/100mL ⁻¹
Biotina	500 mg/100mL ⁻¹
Água da Lagoa Mundaú	250mL ⁻¹
Água dos açudes	250mL ⁻¹

Tabela 3. Concentrações (mL⁻¹) dos compostos dos meios de cultura sintético II- (Provasoli, 1968), com modificações, utilizados para enriquecimento das culturas de microalgas provenientes das coletas de Ipioca-AL.

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO
Solução Principal	
(C ₃ H ₅ (OH)2PO ₄ Na ₂ .H ₂ O) Glicerofosfato de Sódio	105,0 mg/1000mL ⁻¹
(NaNO ₃) Nitrato de Sódio	15,0 mg/1000mL ⁻¹
EDTA (Sal Dissódico P.A)	24,9 mg/1000mL ⁻¹
Solução Sais	
(Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ .6 H ₂ O) Sulfato de Ferro Amoniacal	10,5 mg/1000mL ⁻¹
(H ₃ BO ₃) Ácido Bórico	3,0 mg/1000mL ⁻¹
(FeCl ₃ .6H ₂ O) Cloreto Férrico Hexahidratado	0,15 mg/1000mL ⁻¹
(MnCl ₂ .4H ₂ O) Cloreto de Manganês Tetrahidratado	0,6 mg/1000mL ⁻¹
(ZnCl ₂) Cloreto de Zinco	0,075 mg/1000mL ⁻¹
(CoCl ₂ .6H ₂ O) Cloreto de Cobalto	0,0015 mg/1000mL ⁻¹
Soluções vitamínicas	
Citoneurin 5000	1,0 µL/1000mL ⁻¹

Tabela 4: Meio sintético III, para amostras CONCENTRADAS (C₁, C₂, C₃) e FILTRADAS (F₁, F₂, F₃), utilizados para enriquecimento das culturas de microalgas provenientes das coletas de Ipioca-AL.

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO
Solução Principal	
Meio Provasoli (modificado)	1.5 µl/500mL ⁻¹
N.P.K.(Nitrogênio, Fósforo, Potássio)	1.5 µl/500mL ⁻¹
Húmus Orgânico	1.5 µl/500mL ⁻¹
Fermento Biológico	1.5 µl/500mL ⁻¹
Vinhoto de Cana-de-Açúcar	1.5 µl/500mL ⁻¹
Fertilizante Folear Mineral Misto	1.5 µl/500mL ⁻¹
Soluções vitamínicas	
Citoneurin 5000	0,5 µL/500mL ⁻¹

As microalgas dos tanques de cultivo de tilápia foram denominadas neste experimento de CONCENTRADAS (C₁, C₂, C₃) e FILTRADAS (F₁, F₂, F₃), sendo as amostras C₁ e F₁ (provenientes do tanque de cultivo de tilápia 1), as amostras C₂ e F₂ (provenientes do tanque de cultivo de tilápia 2) e as amostras C₃ e F₃ (provenientes do tanque de cultivo de tilápia 3) sendo esse procedimento realizado em replicas para cada amostra, sob condições laboratoriais idênticas, para avaliar o padrão de comportamento de cada uma das microalgas cultivadas.

A contagem do número de células algáceas, ocorreu por microscopia direta utilizando Câmara de Neubauer com profundidade de 0,1mm. O total do número de células, foi obtido através do somatório das células encontradas nos quatro quadrados da câmara, obedecendo uma margem de erro, segundo Lund et al (1958) apud LOURENÇO (2006).(tabela 05)

Tabela 5. Números de indivíduos contados e exatidão correspondente, para um limite de confiança de 0.95.

Número de organismos contados	Erro tipicamente associado à contagem	Intervalo real de variação da contagem
4	±100%	0-8
16	±50%	8-24
100	±20%	80-120
400	±10%	360-440
1.600	±5%	1.520-1.680
10.000	±2%	9.800-10.200
40.000	±1%	39.600-40.400

* Segundo Lund et al (1959) apud LOURENÇO (2006).

Recuperação de biomassa algal

O processo de separação das microalgas (biomassa) do meio líquido se deu por floculação seguido de decantação e ocorreu no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) do Centro de Tecnologia (CTEC) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Para o processo de floculação foram utilizados 1 mL⁻¹ de sulfato ferroso para cada 20 L de meio de cultura. A amostra foi em seguida submetida à agitação durante um período de 20 minutos.

Foram observados a formação de flocos e aguardou-se por mais um período de 20 minutos, para que ocorresse a decantação da biomassa das microalgas presentes, no fundo do recipiente. Após este período de tempo, foram observadas a decantação, sendo em seguida o sobrenadante retirado, com cautela, com a finalidade de evitar ao máximo a quebra dos flocos.

O resíduo que permaneceu no fundo do recipiente foi centrifugado, visando à separação de fases (líquida/sólida) sendo efetuado a retirada do excesso de água da amostra. Após centrifugação, a amostra da microalga decantada, foi adicionada a um

papel tipo filtro, pesada e seca em estufa a temperatura de 50°C durante o período de 24 horas.

Extração de óleo a partir das microalgas do cultivo

No referido estudo, optou-se por utilizar o solvente hexano, para extração do óleo. O método utilizado para extração do óleo foi o método Soxhlet (1879) convencional com 200 mL⁻¹ de hexano.

O rendimento da extração foi obtido utilizando o quociente entre massa de óleo extraída e a massa total da amostra, obtida quando calculada pela equação abaixo:

Teor de óleo (T_o):

$$T_o = \frac{P_1 - P_2}{n}$$

Sendo: (T_o) - Teor de óleo

(P₁) - Massa seca antes da extração de óleo

(P₂) - **Massa** seca após extração de óleo

Determinação de lipídeos (1AL 032/IV) por extração direta em Soxhlet

O método para determinação de lipídeos presentes na amostra obtida da microalga *Desmodesmus* sp., foi executada por extração direta em Soxhlet (utilizando hexano). A amostra foi previamente seca em estufa, a uma temperatura de 100°C, estufa durante o período de 1 hora, em balão de fundo chato previamente identificado, no cartucho em que se procedeu a extração de óleo pelo método Soxhlet.

Após este período o material foi transferido para dessecador até peso constante. Pesou-se 2g de amostra em cartuchos de Soxhlet com papel de filtro qualitativo fechado com algodão. Acoplou-se o cartucho em conjunto de soxhlet com balão de fundo chato. Adicionou-se sobre os cartuchos 100mL de hexano e procedeu a extração de forma contínua por um período de 2 horas em chapa aquecedora, usando uma temperatura na qual o solvente não ficou sob ebulição.

Após o período de extração determinado pela liquidez do solvente destilado, desmontou-se o sistema Soxhlet e retirou-se o cartucho ou papel de filtro. O hexano destilado foi transferido para um balão e em seguida para estufa a 100 °C, por período

de duas horas. Após esfriamento da amostra em dessecador, foram procedidas a pesagem, e o resultado foi obtido utilizando-se a fórmula descrita abaixo:

$$\text{Lipídeos} = \frac{100 * N}{P}$$

Sendo: (N) - massa de lipídeos (massa final do balão – massa do balão);

(P) - massa tomada da amostra.

Onde: O peso da amostra (P) - é o conjunto (massa da amostra + cartucho de filtro de papel).

Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente, empregando-se média e desvio padrão plotados em planilha eletrônica, utilizando o programa MICROSOFT EXCEL 2010, com a finalidade de identificar a ocorrência ou não de diferenças significativas, entre os parâmetros testados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos parâmetros físicos de pH e temperatura, observados em laboratório durante o cultivo, estes se encontram descritos na (tabela 6 e figuras 1 e 2).

Neste estudo o pH variou de 3,06 a 6,57, apresentando-se dentro da faixa de ligeiramente ácido, durante as etapas do cultivo. Já as taxas de temperatura oscilaram de mínima 24,6, na amostra C1 (25 maio/2012) e máxima de 31,3 na amostra F3 (30 de maio/2012).

A temperatura é um dos fatores que mais afetam a taxa metabólica dos organismos. Apesar de ter ocorrido um problema com o sistema de refrigeração no laboratório, como pode ser observado na (tabela 7), com aumento da temperatura a partir de 02/05/2012, até esta data, a mesma variou de 25,2 °C a 28,7 °C.

Tabela 6. Temperatura e ph do cultivo de microalgas em laboratório, obtidas de água dos tanques de tilápia no período de maio a junho de 2012.

	22/mai		23/mai		24/mai		25/mai		26/mai		29/mai		30/mai		31/mai		02/jun	
	T°	p	T°	p	T°	p	T°	p	T°	p	T°	p	T°	p	T°	p	T°	pH
	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	T°C	pH	T°C	pH	T°C	pH
*C	25.	6.	25.	6.	25.	6.	24.	6.	28.	6.	29.	6.	30.	6.	29.	6.	28.	6.
1	5	6	2	2	1	2	6	2	9	2	5	3	5	5	7	2	8	0
*C	26.	3.	25.	6.	25.	6.	25.	5.	28.	6.	30.	4.	30.	5.	31.	5.	30.	5.
2	9	2	7	0	6	0	2	9	5	0	1	0	6	4	2	1	1	2
*C	26.	3.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1	1																
*F	27.	4.	26.	4.	25.	4.	25.	4.	28.	4.	29.	4.	29.	6.	29.	5.	29.	5.
1	2	1	4	5	5	2	4	3	7	3	0	4	3	2	4	0	0	0
*F	26.	5.	26.	4.	26.	5.	25.	5.	28.	5.	29.	4.	30.	5.	31.	4.	30.	4.
2	6	5	1	7	3	4	6	1	9	1	7	1	4	1	0	8	2	8
*F	27.	3.	26.	4.	26.	4.	25.	3.	28.	4.	30.	4.	31.	5.	31.	5.	30.	5.
3	1	9	0	0	1	0	4	9	4	3	2	0	3	4	0	2	5	4
Σ	22.	8.	25.	5.	25.	5.	25.	5.	28.	5.	29.	4.	30.	5.	30.	5.	29.	5.
	6	5	8	1	7	2	2	0	7	2	7	5	4	7	4	3	7	3
D	9.6	9.	0.3	0.	0.4	1.	0.	0.	0.	0.	0.5	0.	0.	0.	0.	0.	0.7	0.
P	2	2	8	8	0	9	8	8	2	2	5	2	5	2	2	2	3	3

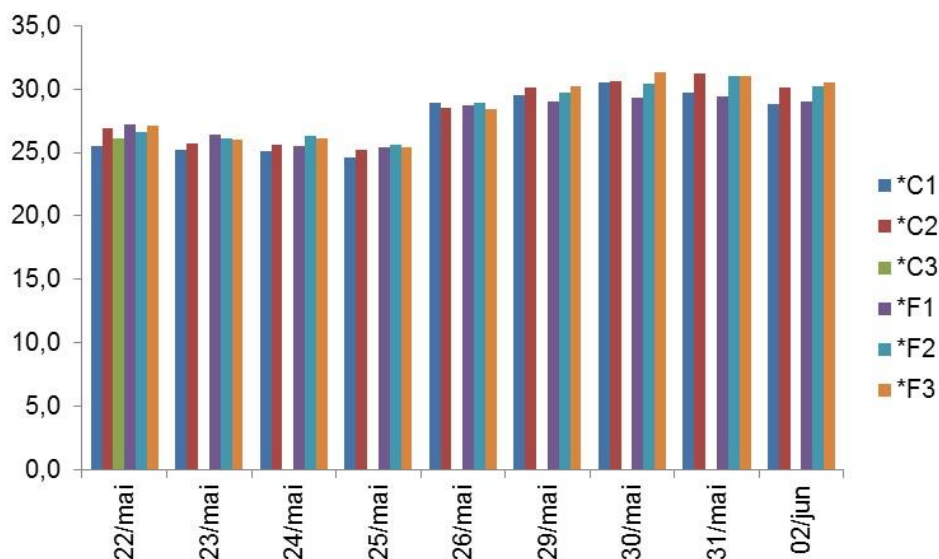


Figura 01. Temperatura do cultivo de microalgas em laboratório, obtidas de água dos tanques de tilápia no período de maio a junho de 2012.

Espécies tropicais podem ser cultivadas em temperaturas entre 20-25°C e outras também podem necessitar de temperaturas mais altas ou mais baixas para atingir um crescimento ótimo, estando na dependência das necessidades de cada espécie. Cultivar microalgas em temperaturas diferentes da temperatura ótima pode provocar uma diminuição do crescimento celular (no caso de baixas temperaturas) ou inibição e morte (no caso de altas temperaturas) (TEIXEIRA, 1973; LOURENÇO, 2006; RIBEIRO et al., 2010).

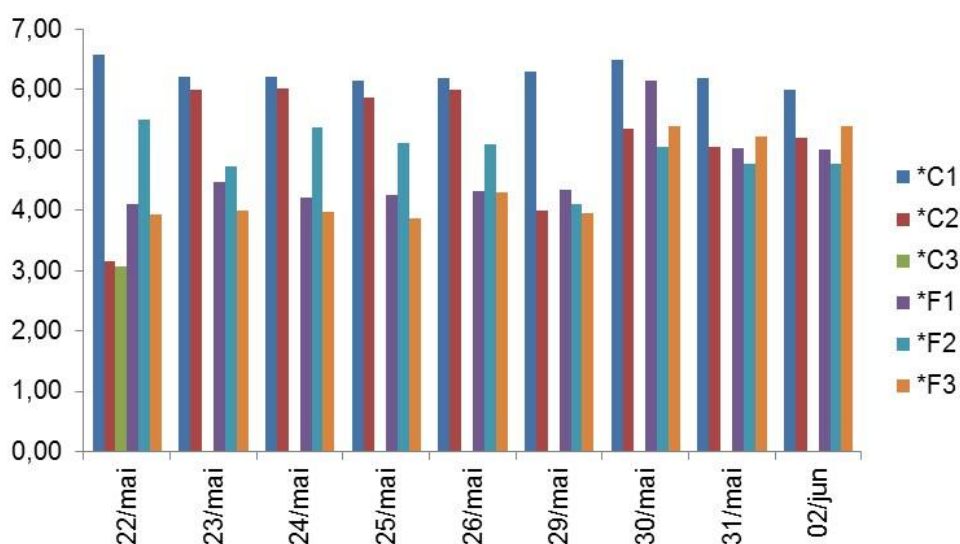


Figura 02. Ph do cultivo de microalgas em laboratório, obtidas de água dos tanques de tilápia no período de maio a junho de 2012.

* Amostras concentradas (C₁, C₂, C₃) e filtradas (F₁, F₂ e F₃) obtidas dos tanques de cultivo de tilápia (T₁, T₂ e T₃) e isoladas em laboratório; (-) significa: valores referentes as amostras que não foram determinados; Σ = media do pH e temperatura das amostras concentradas (C₁, C₂, C₃) e filtradas (F₁, F₂ e F₃) ao longo dos dias; DP= desvio padrão do pH e temperatura das amostras concentradas (C₁, C₂, C₃) e filtradas (F₁, F₂ e F₃) ao longo dos dias.

Embora o pH seja uma variável físico-química, seu controle é essencial para que componentes do meio de cultura possam ser efetivamente absorvidos, afetando diretamente a disponibilidade de vários elementos químicos. O pH em níveis de 9,0-9,5 é considerado tóxico para muitas espécies de microalgas. Valores de pH entre 6 e 9 favorecem o crescimento da alga com pH ótimo ao redor de 7,8 (LOURENÇO, 2006; PÉREZ et al., 2008).

Verificou-se que de acordo com a literatura que algumas espécies de microalgas são indicadas para cultivo quando se tem como fim, a produção de biodiesel. A comunidade fitoplanctônica das áreas estudadas no presente trabalho, estiveram representadas por espécies distribuídas nos filios Chlorophyta (45 spp.) com 64% de abundancia relativa sendo considerado dominante, Cyanophyta (12 spp.) com 17% considerada pouco abundante, Bacillariophyta (09 spp.) com 9%, Euglenophyta (03 spp.) 3% e Dinophyta (01 sp.) 1%, sendo estas tres utlimas consideradas raras (Figura 04)

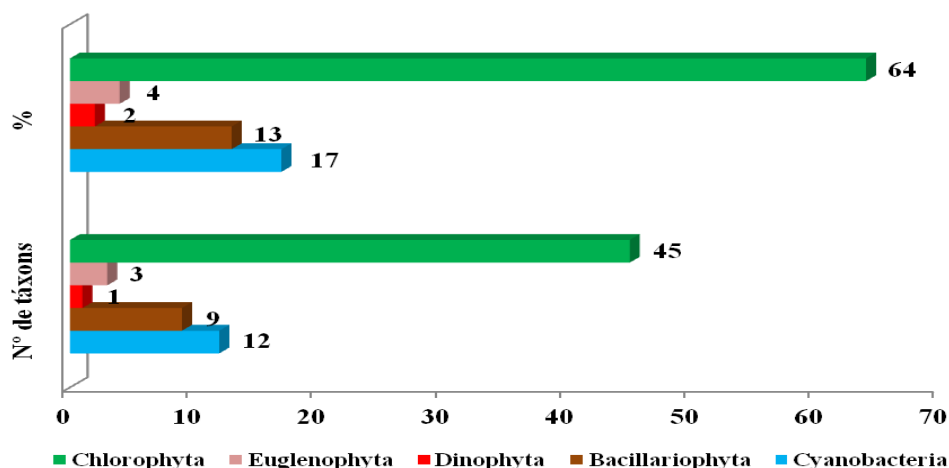


Figura 03. Abundancia relativa (%) dos Filios Chlorophyta, Euglenophyta, Dinophyta, Bacillariophyta e Cyanobacteria.

As amostras de microalgas concentradas e filtradas, foram contadas ao longo de seis dias, com intervalos de contagem (Cél.L-1) de dois dias, utilizando Câmara de Neubauer com profundidade (0,1mm), onde são descritos os valores de média e desvio padrão.

O estudo da densidade fitoplanctônica das amostras (C₁, C₂, e C₃ e F₁, F₂ e F₃) revelou a ocorrência de espécies de Chlorophyta em números significativos (tabela7). Dentre estas clorofíceas, foi possível o isolamento das microalgas dos gêneros *Desmodesmus* sp., e *Westella botryoides* (West) de Wildeman. Foi possível observar uma acentuada variação na densidade celular em número de (Cél.L-1) do fitoplâncton em relação às contagens, durante o período estudado de (14 e 24/06/2012) sendo, esta variação, mas acentuada nos dias 20/junho/2012 e 24/junho/2012, apenas para as amostras (C₁ e C₂).

Tabela 7. Determinação da densidade de microalgas das amostras concentradas e filtradas obtidas em três tanques criação de tilápia- Ipioca/AL.

Gêneros de Microalgas Identificadas nas amostras	Número de (células) de microalgas contadas em Câmara de Neubauer					
	14/06/20	16/06/20	18/06/20	20/06/20	22/06/20	24/06/20
	12	12	12	12	12	12
*C ₁ <i>Desmodesmus</i> sp.	150.00	200.00	375.00	730.00	500.00	640.00
*C ₂ <i>Westella botryoides</i>	130.00	180.00	440.00	660.00	472.00	552.00
*C ₃ <i>Desmodesmus</i> sp.	-	-	-	-	-	-

*F	<i>Desmodes</i>						
1	<i>mus sp.</i>	12.80	13.44	20.64	25.47	13.44	13.92
*F	<i>Westella</i>						
2	<i>botryoides</i>	6720.00	7.65	19.68	21.36	34.56	32.64
*F	<i>Desmodes</i>						
3	<i>mus sp.</i>	5.92	8.46	17.28	21.36	30.72	31.98
Σ		1403.74	81.91	174.52	291.64	210.14	254.11
D							
P		2658.78	88.50	191.34	330.09	225.52	280.62

*Amostras concentradas (C₁, C₂, C₃) e filtradas (F₁, F₂ e F₃); (-) significa: valores referentes as amostras não foram determinados; Σ = media das células de microalgas; DP= desvio padrão das células de microalgas.

Teor de óleo

No referido estudo as amostras de algas do gênero *Desmodesmus* sp., foram submetidas a extração de óleo pelo método/via "Soxhlet". O rendimento do óleo, foi obtido utilizando-se o quociente entre massa do óleo extraída e a massa total da amostra, como segue nos cálculos descritos abaixo:

Teor de óleo (T_o):

$T_o = \frac{P_1 - P_2}{P_1} = \frac{0,091}{3,4591} = 0,02630 \rightarrow$ que equivale à 2,63% teor de óleo, obtidos para o gênero de microalga *Desmodesmus* sp.

P₁ \rightarrow 3,4591

Onde: P₁ - 3,5501- amostra de microalgas seca antes da extração de óleo.

P₂ - 3,4591- amostra de microalgas seca após extração de óleo.

O valor obtido é considerado pouco satisfatório para o referido estudo tendo em vista, que o volume de biomassa de microalga seca, impossibilitou o resgate total do óleo ficando desta forma na margem de erro do equipamento.

Neste sentido, podemos citar o trabalho de Dantas et al. (2010) que sugerem que o metanol e o tetrahydrofurano apresentaram-se como os solventes mais eficientes na extração de componentes de microalgas utilizando o ultrassom. Ainda segundo o

autor, o hexano, solvente comumente utilizado em extração por Soxhlet não apresenta extração acentuada de componentes de microalgas, quando se utiliza o ultrassom.

Segundo Halim et al. (2012), o mecanismo proposto para extração por solvente orgânico pode ser dividido em 5 passos e durante esses processos uma película orgânica estática é formado devido à interação entre o solvente orgânico e parede celular. Este filme envolve a célula das microalgas e permanece imperturbável por qualquer fluxo de solvente ou agitação.

Durante este experimento, foi obtido 3,5501g de biomassa de alga *Desmodesmus* sp., com teor de óleo de 2,63%. Este valor foi abaixo do esperado e apresentou-se na margem de erro do equipamento, impossibilitando o resgate do óleo solubilizado pelo hexano durante o processo extração. Isso pode ser evidenciado em outras pesquisas que visaram a obtenção do biodiesel, quando se utilizou a método soxhlet.

Embora os biocombustíveis de microalgas (principalmente o biodiesel, bioetanol, biometano e bio-óleo) sejam previstos para trazer uma contribuição significativa na diversificação do setor global de energia renovável, ainda existe um grande ponto de interrogação em torno da sustentabilidade na indústria para funcionamento a longo prazo. Até agora, não há nenhuma produção e processamento comercial de biomassa de microalgas em biocombustíveis. Isto tem causado a falta de compreensão da cadeia de operação a nível de processo global (LAM e LEE, 2012).

Determinação do teor de lipídeos

O rendimento de lipídeos foi obtido pelo método por extração direta em Soxhlet e para efeitos de cálculo foi usado a seguinte fórmula:

$$\text{Lipídeos} = \frac{(P - N) * 100}{P}$$

Sendo: P - Peso do conjunto (amostra + filtro) seco em estufa;

N - Massa de lipídeos.

Onde: (P) - 3,4590g → Peso da amostra, conjunto (filtro + amostra);

(Q₁) - 134,1442g → Peso do balão antes da extração;

(Q₂) - 134,1900g → Peso do balão após a extração;

$$(N) = (Q_2 - Q_1) = 0,0457g \rightarrow \text{Massa de lipídeos.}$$

Cálculo para determinação do teor de lipídeos:

$$\text{Lipídeos (\%)} = \frac{(3,4590 - 0,0457) * 100}{3,4590} = 98,68\%$$

3,4590

Este valor obtido ao final do processo de extração de 98,68% foi o percentual de lipídios, obtido para o gênero de microalga *Desmodesmus* sp.

Sabe-se que tanto o carbono inorgânico (CO₂) como o carbono orgânico são fontes de acetato de glucose, etc, e podem ser utilizados pelas microalgas para produção de lípidos. Para obter biodiesel, a gordura vegetal ou óleo animal é submetido a uma reação química denominada transesterificação (KNOTHE, 2005; HUANG, et al., 2010).

Halim et al. (2012) descreveram que a extração dos lipídios das microalgas geralmente usa um solvente orgânico ou fluido supercrítico (tal como o dióxido de carbono supercrítico), utilizando extração por solvente. Para extração de fluido supercrítico, a pressão de descompressão retorna a extração por solvente, bem como a água residual para a seu estado gasoso e resulta em precipitação forçada dos lípidos. Como tal, nenhuma etapa adicional é necessária para a remoção da extração por solvente e água residual.

Para Knothe (2005) o metanol é utilizado como o álcool para a produção de biodiesel por apresentar menor custo, embora outros álcoois tais como etanol e O-propanol possam produzir biodiesel com melhores propriedades de combustível. Muitas vezes, os produtos resultantes são também chamados ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) em vez de biodiesel.

Halim et al., (2011) mostraram que o gênero *Chlorococcum* sp. utilizado em seu estudo, apresentou um baixo rendimento lipídico (7,1%) em relação ao peso de biomassa seca em comparação espécies de microalgas ricas em lipídios como *Nannochloropsis* sp. (com percentual de 25,0% em relação ao peso de biomassa seca) e *Botryococcus braunii* (com percentual de 28,6% em peso para biomassa seca). Para extração supercrítica usando CO₂, o rendimento de lipídios foi usado para diminuir com a temperatura e para aumentar com a pressão. Foram encontradas diferenças não

significativas nas composições de lipídeos FAMA e em extratos obtidos sob diferentes parâmetros de extração de CO₂ supercríticos.

Ainda segundo Halim (2011), o sucesso proposto no modelo, correlaciona a evolução lipídica durante a extração de CO₂ supercrítico ($r^2 > 0,92$) o que tem permitido uma análise mais aprofundada e demonstrado que o coeficiente lipídico da transferência de massa (k) aumenta com a polaridade do solvente. Já com a extração pelo método Soxhlet utilizando hexano, foi considerada significativamente menos eficiente do que a extração usando CO₂ supercrítico, conseguindo rendimento lipídico de 0,058 g/g de microalgas seca.

Nos últimos anos, o potencial e perspectivas das microalgas para o desenvolvimento de energia sustentável têm sido amplamente analisado e as microalgas estão previstas para ser o combustível do futuro sendo considerada na atualidade como uma das principais fontes de pesquisas no campo dos biocombustíveis e que pode trazer enormes benefícios para os seres humanos e para o ambiente. O processo produtivo que predomina em escala mundial ocorre através da reação de transesterificação de óleos vegetais (soja, dendê, mamona, amendoim, palma etc.) com um álcool (metanol ou etanol), na presença de um catalisador ácido ou básico. Desta reação deriva um éster (biodiesel) e diversos subprodutos (glicerina, lecitina etc.). A escolha de uma ou outra rota (metílica ou etílica) depende da realidade de cada país, dos preços de cada um dos produtos das rotas, bem como do consumo de energia gasta no processo reativo (HALIM et al., 2011; MATTEI, 2010; LAM e LEE, 2012).

4 CONCLUSÕES

Com relação ao levantamento da comunidade fitoplanctônica realizado no referido estudo, obteve-se um total de 70 táxons, distribuídos nos Filos Chlorophyta, Cyanophyta, Bacillariophyta, Euglenophyta e Dinophyta.

O Filo mais representativo foi o filo Chlorophyta, com 45 táxons, seguido por Cyanophyta 12 táxons, Bacillariophyta 9 táxons, Euglenophyta 3 táxons e Dinophyta 1 táxon.

O resultado da contribuição relativa dos Filos foi maior para Chlorophyta, com 64%, (dominante) seguido por Cyanophyta 17% (pouco abundante), Bacillariophyta 9%, Euglenophyta 3% (ambos raras).

No referido estudo, *Desmodesmus* sp., foi a espécie melhor favorecida pelos meios utilizados (sintéticos e naturais).

Ao final do processo de extração por solvente pelo método Soxhlet convencional, foi possível obter 2,63% de óleo e 98,68% de lipídeos, para o gênero *Desmodesmus* sp.

A água da Lagoa Mundaú, utilizada neste estudo, como meio natural não demonstrou eficiência no crescimento das culturas algais testadas;

A substituição do vinhoto, combinado a outros meios sintéticos como meio Provasoli, N.P.K, Húmus Orgânico, Fermento Biológico, Fertilizante Foliar Mineral Misto, adicionado de vitamina citoneurin 5000 evidenciou ser um bom meio de cultivo e, promoveram o crescimento da microalga *Desmodesmus* sp., de forma satisfatória podendo ser explorados em futuros estudos e pesquisas, como forma de diminuir os custos de produção de cultivo em laboratório.

Foi possível observar, que procedimentos metodológicos podem ser adaptados, a fim de, estabelecer melhor rendimento de óleo e lipídeos para as microalgas obtidas nos mais diferentes ambientes.

5 REFERÊNCIAS

ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS). **NBR 14724**: informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. Rio de Janeiro, 2011. 11p.

ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS). **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS). **NBR 6024**: numeração progressiva das seções de um documento. Rio de Janeiro, 2003.

ALGAEBASE: listing the world's algae. Disponível em: <<http://www.algaebase.org/>>. Acesso em: 30 jan. 2012.

AMIN, S. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. **Energy Conversion and Management**, v. 50, p.1834–1840, 2009.

- ANAGNOSTIDIS, K.; KOMÁREK, J. Modern approach to the classification system of cyanophytes: 3- Oscillatoriales. **Algological Studies**, v. 50-53, p. 327-472, 1988.
- ANAGNOSTIDIS, K.; KOMAREK, J. Modern approach to the classification system of Cyanophyta, 5: Stigonematales. **Algological Studies**, v 59, p. 1-73, 1990.
- ARAUJO, G.S. **Utilização das Microalgas na Biotecnologia, com Ênfase para o Biodiesel e Análise de Imunoparâmetros em Camarões Marinhos**. 2011. 111f. Tese (Doutorado em Engenharia de Pesca), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
- ARAÚJO, J.C. Gestão das águas de pequenos açudes na região semiárida. p. 307-321, 2010. In: MEDEIROS, S.S.; GHEYI, H.R.; GALVÃO, C.O.; PAZ V.P.S. **Recursos Hídricos em Regiões Áridas e Semiáridas**. Campina Grande, PB: Instituto Nacional do Semiárido, 2011. 440 p. ISBN 978-85-64265-011.
- BELLINGER, E.G.; SIGEE, D.C. **Freshwater Algae - Identification and use as Bioindicators**. Chichester: Wiley-Blackwell, West Sussex, 2010. 285 p. ISBN 978-0-470-05814-5.
- BICUDO, C.E.M.; MENEZES, M.. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições**. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2006. 502p.
- BOLD, H.C.; WYNNE, M.J. **Introduction to the Algae: structure and reproduction**. 2. ed., Prentice-Hall, Inc.: Englewood Cliffs, New Jersey, 1985. 720p.
- BONINI, M.A. **Cultivo heterotrófico de *Aphanothece microscópica* Nägeli e *Chlorella vulgares* em diferentes fontes de carbono e em vinhaça**. 2012. 96f Dissertação (Mestrado em Agricultura e Ambiente), Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2012.
- BORGHETTI, I.A. **Avaliação do Crescimento da Microalga *Chlorella minutissima* em meio de cultura com diferentes concentrações de Manipueira**. 2009. 103f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Bioprocessos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
- CARVALHO, K.S. **Análise da Viabilidade Técnica e Econômica do Cultivo de Microalgas para a produção de biodiesel: Estudo de Caso em Paranaguá – Estado do Paraná**. 2010. 92f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Meio Ambiente)- Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento, Curitiba, 2010.

- CHANDY, J.P.; AI-TISAN, I.; MUNSHI, H. A.; EL REHEIM, H.A. Marine Phytoplankton: A Study on Seasonal Abundance and Distribution in Al-Jubail. **Issued as Technical Report No. SWCC (RDC)**, 1991.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**. v..26, n..3, p. 126-131, 2008.
- CHISTI, Y. Research review paper: biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**. v. 25, p. 294-306, 2007.
- COUTINHO, L.M. O conceito de bioma. **Acta Botanica Brasilica**. v. 20, n. 1, p. 13-23, 2006.
- CUPP, E. E. Marine Plankton Diatoms of the West Coast of North America. **Bulletin cyanophytes: 3- Oscillatoriales**. **Algological Studies**, v. 50-53, p. 327-472, 1988.
- DAFANTI, L.S.; SIQUEIRA, N.S.; LINHARES, P.C.. Produção de biocombustíveis a partir de algas fotossintetizantes. **Bolsista de Valor: Revista de Divulgação do Projeto Universidade Petrobras e Instituto Federal Fluminense**. v.1, p.11-21, 2010.
- DANTAS, D.M.M.; DRUMMOND, A.R.F.; SANTOS, L.B.G.; SANTOS, F.K.; BEZERRA, R.S.; GÁLVEZ, A.O. Extração de óleo de microalga utilizando ultrassom com diferentes solventes visando a produção de biodiesel. In: **IV CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA E I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS**, João Pessoa. Inclusão Social e Energia, 2010, São Paulo. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 1900-1904.
- DENG, X.; LI, Y.; FEI, X. Microalgae: A promising feedstock for biodiesel. **African Journal of Microbiology Research**, v.3, n.13, p. 1008-1014, 2009. ISSN 1996-0808.
- DESIKACHARY, T.V. **Cyanophyta**. New Delhi: Indian Council of Agricultural Research, 1959. 686p.
- DRAGONE, G.; FERNANDES, B.; VICENTE, A.A.; TEIXEIRA, J.A. Third generation biofuels from microalgae. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnolog**. p.1355-1366, 2010.
- FILHO, F.A.S. A política nacional de recursos hídricos: Desafios para sua implantação no semiárido brasileiro. p. 1-25, 2010. In: MEDEIROS, S.S.; GHEYI, H.R.; GALVÃO, C.O.; PAZ V.P.S. **Recursos Hídricos em Regiões Áridas e Semiáridas**. Campina Grande, PB: Instituto Nacional do Semiárido, 2011. 440 p. ISBN 978-85-64265-011.

FRANCESCHINI, I.M.; BURLIGA, A.L.; REVIERS, B.; PRADO, J.F.; RÉZIG, S.H. **Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica**. Porto Alegre: Artmed, 2010. 332p.

FRANCO, V.P.C. **Produtividade primária da zona costeira adjacente aos estuários do tejo e sado**. 2007. 92f. Dissertação (Mestrado em Biologia e Gestão de Recursos Marinhos), Universidade de Lisboa, Lisboa, 2007.

GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A.C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **J Ind Microbiol Biotechnol**. v.36, p. 269-274, 2009.

HALIM, R.; GLADMAN, B.; DANQUAH, M.K.; WEBLEY, P.A. Oil extraction from microalgae for biodiesel production. **Bioresource Technology**. v.102, p.178-185, 2011.

HALIM, R.; DANQUAH, M.K.; WEBLEY, P.A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 709-732, 2012.

HEREDIA-ARROYO, T.; WEI, W.; HU, B. Oil Accumulation via Heterotrophic/Mixotrophic *Chlorella protothecoides*. **Appl Biochem Biotechnol**. v.162, p.1978-1995, 2010.

HOLANDA, L.R.; RAMOS, F.S.; MEDEIROS, E.R.C.; SANTOS, J.D. O cultivo de microalgas para a geração de eletricidade. In: VII CONGRESSO NACIONAL DE EXCELÊNCIA EM GESTÃO, 2011, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, p. 1-13, 2011. ISSN: 1984-9354.

HORECKÁ, M.; KOMAREK, J. Taxonomic position of three planktonic blue-green algae from the genera *Aphanizomenon* and *Cylindrospermopsis*. **Preslia**, v. 51, p. 289 -312, 1979.

HUANG, G.H.; CHEN, F.; WEI, D.; ZHANG, X.W.; CHEN, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. **Applied Energy**, v. 87, p. 38-46, 2010.

HUSTEDT, F. Die Kieselaagen. Deutschlands, Osterreichs und der Schweiz unter Berucksichtigung der ubrigen Lander Europas sowie der angrenzenden Meeresgebiete. Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K-G. (L. Rabenhorst) **Kryptogamen-Flora von Deutschland, Osterreich und der Schwiz**, v. 7, p. 1-4, 1961-1966.

HUSTEDT, F. Die Kieselalgen. **L. Rabenhorst Kryptogamen-Flora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz**, v. 7, n.1-6, p. 1-920, 1959.

HUSTEDT, F. Die Kieselalgen. **L. Rabenhorst Kryptogamen-Flora Von Deutschland, Österreichs und der Schweiz**, v.7, p. 1-920, pt. 1, 1930.

HUSZAR, V.L.M.; GIANI, A. Amostragem da Comunidade Fitoplanctônica em Águas Continentais: Reconhecimento de Padrões Espaciais e Temporais. p. 133-145. In: BICUDO, C.E.M.; BICUDO, D. C. **Amostragem em Limnologia**. São Carlos: Rima, 2004. 371p.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Normas de Apresentação Tabular**. 3 ed. Rio de Janeiro, 1993. 62p.

KNOTHE, G. Introduction: What Is Biodiesel. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J.V.; KRAHL, J. (Ed.). **The Biodiesel Handbook**. 1. ed. Urbana: AOCS Press, Champaign, Illinois, 2005. 302 p.

KOMÁREK, J. A review of water-bloom forming. In: *Microcystis*: species, with regard to populations from Japan. **Algological Studies**, v. 64, p. 115-127, 1991.

KOMÁREK, J. Sobre las cianofíceas de Cuba: 3 especies planctónicas que forman florecimientos de las aguas. **Acta Botânica Cubana**, v. 19, p. 1- 33, 1984.

KOMÁREK, J.; AGNAGNOSTIDIS, K. Modern approach to the classification system of cyanophyte, 4: Nostocales. **Algological studies**, v. 56, p. 242-345, 1989.

KOMÁREK, J.; AGNAGNOSTIDIS, K. Modern approach to the classification system of cyanophyte: 2- Chroococcales. **Algological Studies**. 43:157-226. 1986.

KOMAREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. **Cyanoprokaryota**. 2. Oscillatoriales. Pp. 1-759. In: Bridel, B.; Krienitz, L.; Gartner, G.; Schargerl, M. (Eds.), Oscillatoriales. Subwasserfl ora von Mitteleuropa. Muncher, Elsevier GmbH, 2005.

KOMAREK, J.; KLING, H.; KOMARKOVA, J. Filamentous Cyanobacteria. Pp.117-196. In: Wehr, J.D. e Sheath, R.G. (Eds.). **Freshwater algae of North America: ecology and classification**. New York, Academic Press, 2003.

KOMÁREK, J.; KOVÁCIK, L. Trichome structure for *Aphanizomenon* taxa (Cyanophyceae) from Czechoslovakia, with notes on the taxonomy and delimitation of the genus. **Plant Systematics and Evolution**, v. 164, p. 47-64, 1989.

LAM, M.K.; LEE, K.T. Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. **Biotechnology Advances**, v.30, p. 673-690, 2012.

LANGE, C. B.; HASLE, G. R., SYVERSTEN, E. E. Seasonal cycle of diatoms in the Skagerrak, North Atlantic, with emphasis on the period 1980-1990. **Sarsia**, Oslo, v.77, p. 173-187, 1992.

LOBO, E.; LEIGHTON, G. **Estruturas comunitarias de las fitocenosis planctonicas de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central de Chile**. *Biologia Marina*, v. 22, p.1-29, 1986.

LOURENÇO, S.O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, 2006. 606p.

MASCARENHAS, J.C.; BELTRÃO, B.A., JUNIOR, L.C.S. **CPRM - Serviço Geológico do Brasil - Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Campo Alegre, Estado de Alagoas**. Recife: CPRM/PRODEEM, 2005b. 12p.

MASCARENHAS, J.C.; BELTRÃO, B.A., JUNIOR, L.C.S. **CPRM - Serviço Geológico do Brasil - Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Anadia, Estado de Alagoas**. Recife: CPRM/PRODEEM, 2005a. 12p.

MATTEI, L. Programa Nacional para Produção e Uso do Biodiesel no Brasil (PNPB): Trajetória, Situação Atual e Desafios. **Documentos Técnico-Científicos**. v. 41, n. 4, p.731-740, 2010.

MELO-MAGALHÃES, E.M. **Influência da Eutrofização do Complexo Estuarino-Lagunar Mundaú/Manguaba, Alagoas Brasil, sobre a Comunidade Fitoplanctônica**. 2005, 253f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Áreas Prioritárias para a Conservação, Uso Sustentável e Repartição de Benefícios da Biodiversidade Brasileira: Atualização – Portaria MMA n. 09, de 23 de janeiro de 2007**. Série Biodiversidade, 31. 2007. 300p. ISBN 978-85-7738-076-3.

MOREIRA FILHO, H.; MATTOS, A.; VALENTE-MOREIRA, I.M. Diatomaceas epifitas em *Codium decorticatum* (Woodward) Howe. **Tribuna Farmacêutica**, v. 45-46, n. 1-2, p. 3-17. 1977-1978.

MORENO, J.L.; LICEA, S.; SANTOYO, H. **Diatomeas del Golfo de Califórnia**. 1 ed. Mexico. Universidad Autonoma de Baja California Sur, SEP-FOMES, PROMARCO, 1996. 172p.

NOGUEIRA, N.S. **Análise Delphi e SWOT das Matérias-primas de Produção de Biodiesel: Soja, Mamona e Microalgas**. 2010. 177f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

OHSE, S.; DERNER, R.B; OZÓRIO, R.A.; BRAGA, M.V.C.; CUNHA, P.; LAMARCA, C.P.; SANTOS, M.E. Crescimento de microalgas em sistema autotrófico estacionário. **Biotemas**, v.21, n.2, p. 7-18, 2008. ISSN 0103-1643.

OLIVEIRA, E.C. **Introdução à Biologia Vegetal**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1996. 224p. ISBN: 85-314-0349-9.

PARRA, O.O.; BICUDO, C.E.M. **Introduccion a la biologia y sistematica de las algas de aguas continentales, Santiago – Chile**. Grafica Andes, 1995. 268p.

PEQUENO, M.A.G. **Avaliação do Potencial Produtivo de Óleos Obtidos a Partir de Microalgas por Cromatografia Gasosa**. 2010, 65f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2010.

PÉRAGALLO, H.; PÉRAGALLO, M. **Diatommées marines de France et des districtes maritimes voisins**. Paris: J.Tempere, 1897-1908. 491 p.

PEREIRA, H. **Desenvolvimento e otimização de um meio de cultura para produção de biomassa algal em larga escala**, 2009. 77f. Dissertação (Mestrado em Aquacultura e Pescas), Universidade do Algarve, Faro, 2009.

PÉREZ, B.E.; PINA, C.I. RODRÍGUEZ, L.P; Kinetic model for growth of *Phaeodactylum tricornutum* intensive culture photobioreactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 40, p. 520-525, 2008.

PRESCOTT, G. W. **Algae of the western Great lakes area**. 6. ed. Dubuque: WM.C. Brown Company, 1975. 962 p.

PROVASOLI, L. **Media and prospects for the cultivation of marine algae**. In: **Watanabe A, Hattori A (eds) (1968). Cultures and Collections of Algae, Proceedings of the U.S. Japan Conference, Hakone, Sept. 1966. Japanese Society of Plant Physiology, Hakone, Japan, p.63-75, 1968.**

RAVEN, P.H.; R.F. EVERT; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 6. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906p.

REYNOLDS, C.S. **The Ecology of Phytoplankton**. Cambridge: University Press. New York, 2006. 535p.

RIBEIRO, M.A.T. **A perspectiva dialógica na compreensão de problemas sociais: o caso da pesca de curral em Ipioca – Maceió - AL**. 2003. 277f. Tese (Doutorado em Psicologia Social) - Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, 2003.

RIBEIRO, R.L.L.; VARGAS, J.V.C.; SOUZA, J.A. Modelagem Matemática e Computacional para Fotobiorreatores Tubulares que Cultivam Microalgas. In: XXXIII CONGRESSO NACIONAL DE MATEMÁTICA APLICADA E COMPUTACIONAL - CNMAC, 2010, São Paulo. **Anais...** Águas de Lindóia, SP, v.3, 2010. p.1093-1094. ISSN: 1984-820X.

RICARD, M. **Atlas Du Phytoplankton Marin: Diatomophycées**. Paris, Editions Du Centre National de la Recherche Scientifique. 1987.

ROUND, F. E. The taxonomy of the chlorophyta II. **British Phycological Journal**, v. 6, n. 2. p. 235-264, 1971.

ROUND, F.E.; CRAWFORD, R.M.; MANN, D.G. **The diatoms: biology and morphology of the genera**. New York, Cambridge University Press, 1990. 653p.

SALES, R.M.M.; SALES, L.G.L. Do contexto da crise ambiental à transformação do território: as etapas da relação sociedade/natureza ao longo do tempo. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.5, p. 31-37, 2010. ISSN 1981-8203.

SANT'ANNA, C. L. **Chlorococcales (Chlorophyceae) do Estado de São Paulo, Brasil**. Germany: Stauss & Cramer, 1984. 348 p.

SHEEHAN J., DUNAHAY T., BENEMANN, J.; ROESSLER P. A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program-Biodiesel from algae. **A National Laboratory of the US Department Of Energy**, Colorado, USA, 1998.

SHEI, M.R.P.; BARRETO, O.J.S.; BONFANTE, T.M.; BASTOS, G.C.C. Cultivo da microalga marinha *chaetoceros calcitrans* (Bacillariophyceae) utilizando diferentes tipos de água marinha artificial. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 34, n.4, p. 563-569, 2008.

SILVA, M.H. **Estrutura e produtividade da comunidade fitoplanctônica de um estuário tropical (Sirinhaém, Pernambuco, Brasil)**. Recife: Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, 170 p. , 2009.

SILVA-CUNHA, M.G.G.; ESKINAZI-LEÇA, E. **Catálogo das Diatomáceas (Bacillariophyceae) da Plataforma Continental de Pernambuco**. Recife: SUDENE – DPG/PRN/RPE, Universidade Federal de Pernambuco, 1990. 308p.

SING, S.F.; ISDEPSKY, A.; BOROWITZKA, M.A.; MOHEIMANI, N.R.. Production of biofuels from microalgae. **Springer**, Mitig Adapt Strateg Glob Change, p.1-26, 2011.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; IBARRA, L.C.C.; FIORES, T.B. Cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chlorophyta) em Laboratório utilizando Meio CHU₁₂ e de Macrófita com NPK. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n.1, p. 111-118, 2009.

SIPAUBA-TAVARES, L.H.; ROCHA, O. **Produção de Plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para Alimentação de Organismos Aquáticos**. São Carlos: Rima, 2003. 106p.

SOURNIA, A. Introduction, Cyanophycées, Dictyochophycées, Dinophycées et Rhaphiddophycées. In: **Atlas du phytoplancton marin**. Paris: Centre National de La Recherche Scientifique, 1986. v.1.

SOXHLET, F. Die **Gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes**. **Polytechnisches Journal** . v. 232, p. 461-465, 1879.

POLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Review commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Japan, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006. DOI: 10.1263/JBB.101.87.

STEINDINGER, K.A. e TANGEN, K. Dinoflagellates. Pp. 387-598. In: C.R. Tomas (Ed.). **Identifying marine diatoms and dinoflagellates**. San Diego, Academic Press. 1997.

STREBLE, H.; KRAUTER, D. **Atlas de los microorganismos de água dulce: la vida en una gota de agua**. Barcelona, Omega, 1987.

TAYLOR, Dinoflagellates morphology. In: TAYLOR, F.J.R. (Ed.). **The biology of dinoflagellates**. London: Blackwell Scientific Publications. Botanical Monographs, p. 24-91, 1987.

TEIXEIRA, C. Introdução aos métodos para medir a produção primária do fitoplâncton marinho. **Boletim do Instituto Oceanográfico**. São Paulo, v. 22, p. 59-92, 1973.

TOMAS, C .R. **Identifying marine phytoplankton**. [S.l.]: Academic Press, 1997. 858p.

TOMASELLI, L. The Microalgae: With Reference to Mass-Cultivation: The Microalgal Cell. p. 1-19, 2004. In: **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. (Ed.). AMOS RICHMOND, Blackwell, Science, 2004. ISBN 0-632-05953-2.

VIEIRA, V.P.P.B.; FILHO, J.G.C. Gondim. “Água doce no semiárido”. In: REBOUÇAS, Aldo da BRAGA, Benedito; TUNDISI, José Galizia (Org.). **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. 3.ed. São Paulo: Escrituras, p. 481-505, 2006.

WIKIPEDIA (2012): Lista de Bairros de Maceió. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Anexo:Lista_de_bairros_de_Macei%C3%B3>. Acesso em: 08 jun. 2012.

XAVIER, M. B. Criptógamas do Parque Estadual das Fontes de Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 5: Euglenophyceae (Euglenaceae pigmentadas). **Hoehnea**, v. 21, n.1/2, p. 47-73, 1994.