

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DO RIO GRANDE DO NORTE

KEVILLE PEREIRA DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DA BIOMASSA E DO ÓLEO MICROALGAL DE LAGOA DE  
ESTABILIZAÇÃO**

NATAL-RN

2017

KEVILLE PEREIRA DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DA BIOMASSA E DO ÓLEO MICROALGAL DE LAGOA DE  
ESTABILIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Uso Sustentável de Recursos Naturais, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências legais como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais, na linha de pesquisa em Saneamento Básico.

Orientador: Prof. D.r André Luís Calado Araújo

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. D.ra Marta Costa

NATAL-RN

2017

Oliveira, Keville Pereira de.  
O48a Análise da biomassa e do óleo microalgal de lagoa de estabilização / Keville Pereira de Oliveira. – 2017.  
67 f : il. color.

Dissertação (Mestrado Profissional em Uso Sustentável de Recursos Naturais) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte. Natal, 2017.  
Orientador(a): Prof. D.r André Luís Calado Araújo.  
Coorientador(a): Prof. D.ra Marta Costa.

1. Algas – Biomassa 2. Lagoa de estabilização. 3. Microalgas. I. Araújo, André Luís Calado. II. Costa, Marta. III. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte. IV. Título.

CDU 639.64

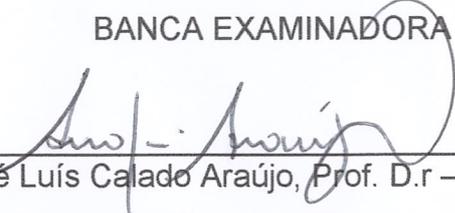
KÉVILLE PEREIRA DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DA BIOMASSA E DO ÓLEO MICROALGAL DE LAGOA DE  
ESTABILIZAÇÃO**

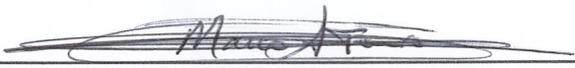
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Uso Sustentável de Recursos Naturais, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências legais como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais, na linha de pesquisa em Saneamento Básico.

Dissertação apresentada e aprovada em 21/08/2017, pela seguinte Banca Examinadora:

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
André Luís Calado Araújo, Prof. D.r – Presidente

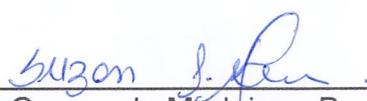
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

  
\_\_\_\_\_  
Marco Antônio Calazans Duarte, Prof. D.r – Examinador interno

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

  
\_\_\_\_\_  
Marta Costa, Prof<sup>ª</sup>. D.ra – Examinadora externa

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

  
\_\_\_\_\_  
Suzan Ialy Gomes de Medeiros, Prof<sup>ª</sup>. D.ra – Examinadora externo

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Dedico esta dissertação a todos os meus familiares e amigos, os quais contribuíram para que eu pudesse conquistar mais um objetivo. Obrigado pelo incentivo e carinho.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer a DEUS, pai supremo e criador de todas as coisas, pois permitiu que chegasse até aqui, e me conduziu nesta trajetória.

Agradeço ainda ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, que contribui para fomentar o desenvolvimento da educação no Estado do Rio Grande do Norte, instituição a qual faço parte como servidor, e que me possibilitou esta qualificação através do Programa de Pós-Graduação em Uso Sustentável dos Recursos Naturais, juntamente com todo o corpo docente e administrativo pelo apoio e oportunidade de aprendizado e crescimento nesta jornada.

Ao meu orientador Professor Doutor André Luís Calado Araújo, por ter assumido o compromisso de realizar a minha orientação e não mediu esforços para o êxito deste trabalho, além de ter contribuído com todo conhecimento adquirido.

Às Professoras Doutoras Marta Costa e Suzan Ialy, do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), pelas contribuições que me foram passadas ao longo desta pesquisa, como também aos meus amigos e colegas do Laboratório de Química Orgânica Aplicada (LAQOA), Anderson Gomes, Carlos Kramer e Joadir Humberto, pela ajuda no desenvolvimento desse trabalho.

À Companhia de Água e Esgoto do Estado do Rio Grande do Norte, pela oportunidade de pesquisa em uma de suas estações de tratamento.

À Professora Dayana Melo Torres, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, pela parceria nesse projeto, compromisso e dedicação nas longas coletas e também à bolsista Priscila do IFRN.

## RESUMO

Lagoas de estabilização produzem efluentes com altas concentrações de biomassa que geralmente são lançadas nos corpos receptores, podendo causar danos ambientais. Todavia, essa biomassa algal, proveniente do efluente final de lagoas de estabilização, pode ser removida e aplicada para diversos fins, dentre os quais se destaca a utilização da biomassa como fonte de energia (biocombustíveis). Diante desse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil dos constituintes metabólicos das biomassas provenientes de lagoas de estabilização da ETE de Ponta Negra, Natal-RN. Foi realizada uma caracterização qualitativa e quantitativa das espécies de microalgas presentes nas lagoas de estabilização. A biomassa foi removida do efluente através das técnicas de centrifugação e flotação por ar dissolvido utilizando doses de coagulantes policloreto de alumínio (100 mg/l) e cloreto férrico (75mg/l). O método de extração foi misto utilizando sistema solvente n-hexano/agitador magnético e banho ultrassônico. O material lipídico extraído da biomassa foi analisado utilizando as técnicas de espectrometria na região do infravermelho com transformada de Fourier, termogravimetria e cromatografia em camada delgada. A biomassa antes e após a extração do óleo foi avaliada utilizando a técnica de espectrofotometria de absorção atômica com chama e a termogravimetria. Os resultados revelaram que as espécies predominantes detectadas nas lagoas foram de *synechococcus* sp. (10%), *Synechocytis* sp. (43%) e *Chlorella* sp. (36%). O rendimento médio do teor de material lipídico extraído das biomassas foi 3,83%. Os espectros de infravermelho e a cromatografia em camada delgada indicaram a presença de éster, ácidos graxos e triglicerídeos no extrato do material lipídico da biomassa. As análises de absorção atômica detectaram a presença de teores de ferro e alumínio totais na biomassa antes e após a extração do óleo. De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, conclui-se que o material lipídico extraído das microalgas identificadas na lagoa de estabilização tem o potencial de produzir um óleo rico em triacilglicerídeos capaz de ser reutilizado na produção de biodiesel. Entretanto, foi verificado que os coagulantes utilizados no processo de flotação provocaram um aumento da concentração de metais na biomassa antes e após a extração do óleo, limitando a sua reutilização em aplicações futuras.

Palavras-chave: Lagoa de estabilização. Biomassa de algas. Biocombustíveis.

## ABSTRACT

Stabilization ponds produce effluents with high amounts of biomass that are transmitted to the receiving lagoons, which can lead to environmental damages. However, this seaweedy biomass, originated from the stabilization ponds' effluent, can be removed and applied in several ways, mostly used as an energy source (biofuels). Therefore, the main purpose of this work is evaluating biomass metabolic constituents profile from stabilization ponds in Ponta Negra (Natal - RN) aiming its future applications. A qualitative and quantitative characterization of the microalgae species present in the stabilization ponds was carried out. The biomass was removed from the effluent by centrifugation and air flotation techniques using aluminum polychloride (100mg/l) and ferric chloride (75mg/l) coagulants. The extraction method was mixed using solvent system n-hexane / magnetic stirrer and ultrasonic bath. The lipid material extracted from the sample was analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (TFIR), thermogravimetry and thin-layer chromatography. After the oil extraction, the dry and residual biomass was evaluated by atomic absorption spectrophotometry. The results show that the predominant species detected in the lagoons were *Synechococcus* sp (10%), *Synechocystis* sp (43%) and *Chlorella* sp. (36%). The average yield of the lipid material content extracted from the biomasses was 3.83%. The Infrared spectra and chromatography results indicated the presence of ester, fatty acids and triglycerides without extract the lipid material from the biomass. Also, atomic absorption analyzes detected significant presence of total iron and aluminum contents in the residual samples. In summary, results show that the lipid material extracted from the stabilization pond has the potential to produce an oil rich in triacylglycerides capable of being reused by biodiesel production. In addition, it was verified that the coagulants used in the propagation process caused an increase in the concentration of metals, limiting their reuse in future applications.

Keywords: Stabilization pond. Biomass. Biofuels.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Reação de transesterificação.....	21
Figura 2 –	Eutrofização na lagoa da Boa Vista (Seta Lagoa, MG) .....	22
Figura 3 –	Diagrama esquemático dos mecanismos de extração de lipídios por solventes orgânicos.....	30
Figura 4 –	Representa dois estágios de separação de uma mistura de dois Componentes mediante cromatografia em papel. (a) Antes da Separação e (b) Depois da separação.....	32
Figura 5 –	Diagrama de um equipamento para análises termogravimetria...	33
Figura 6 –	Esquema de espectrômetro de absorção atômica modo chama...	35
Figura 7 –	Localização da estação de tratamento de esgoto de Ponta Negra.....	37
Figura 8 –	Caixa de distribuição de vazão da segunda lagoa facultativa aerada da ETE Ponta Negra.....	38
Figura 9 –	Caixa de distribuição de vazão da segunda lagoa de maturação da ETE Ponta Negra.....	38
Figura 10 –	Equipamento flotatete utilizado para remover a biomassa.....	39
Figura 11 –	Biomassa flotada.....	41
Figura 12 –	Centrífuga utilizada para remover a biomassa.....	41
Figura 13 –	Armazenamento da biomassa seca.....	42
Figura 14 –	Biomassa seca macerada e peneirada.....	43
Figura 15 –	Sistema de agitação mecânico associado ao banho ultrassônico	43
Figura 16 –	Etapas de recuperação do material lipídico.....	44
Figura 17 –	Espectros de FTIR do material lipídico das microalgas.....	51
Figura 18 –	Placas cromatográficas do material lipídico da LFA, LFA - PAC, LFA - CF (A) e LM, LM - PAC e LM - CF (B).....	52
Figura 19 –	Curvas de TGA e DTG da biomassa seca da LFA, LFA - PAC e LFA - CF (A) e da LM, LM - PAC e LM - CF (B).....	54
Figura 20 –	Curvas de TGA e DTG do extrato das biomassas da LFA, LFA - PAC e LFA - CF (A) e da LM, LM - PAC e LM - CF (B).....	56

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Teor lipídico de algumas espécies de microalgas.....	19
Tabela 2 –	Composição química (%) dos principais ácidos graxos presentes em extratos de lipídeos de <i>Spirulina máxima</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus obliquus</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i> e <i>Neochloris oleoabundans</i> .....	20
Tabela 3 –	Principais fatores que podem afetar as medidas de TGA/DTG....	33
Tabela 4 –	Amostras e pH utilizadas na flotação .....	40
Tabela 5 –	Espécies e gêneros presentes nas lagoas de estabilização .....	47
Tabela 6 –	Material lipídico extraído das microalgas .....	49
Tabela 7 –	Fator de retenção obtido do material lipídico extraído da biomassa .....	52
Tabela 8 –	Eventos térmicos das amostras das biomassas secas .....	55
Tabela 9 –	Eventos térmicos das amostras dos extratos das biomassas secas .....	57

## LISTA DE SIGLAS

CF	Cloreto férrico
CAERN	Companhia de Água e Esgoto do Rio Grande do Norte
CCD	Cromatografia em camada delgada
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
ETE	Estação de tratamento de esgotos
FAD	Flotação por ar dissolvido
FAAS	Espectrofotometria de absorção atômica com chama
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
LFA	Lagoa facultativa aerada
LM	Lagoa de maturação
PAC	Policloreto de alumínio
pH	Potencial hidrogeniônico
RN	Rio Grande do Norte
TG	Termogravimétrica

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 –	Rendimento do material lipídico microalgal .....	44
Equação 2 –	Fator de retenção .....	46

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>15</b>
2.1	OBJETIVOS GERAIS	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>16</b>
3.1	LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO	16
3.2	MICROALGAS EM LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO	17
3.3	APROVEITAMENTO DA BIOMASSA ALGAL DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO COMO POTENCIAL FONTE DE BIODIESEL	19
3.4	MICROALGAS PROVENIENTES DE EFLUENTES DOMÉSTICOS EM MANANCIAS	22
3.5	MÉTODOS DE REMOÇÃO DE MICROALGAS	24
<b>3.5.1</b>	<b>Centrifugação</b>	<b>24</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Coagulação / Flocculação</b>	<b>25</b>
<b>3.5.3</b>	<b>Flotação</b>	<b>26</b>
3.6	MÉTODOS DE SECAGEM DA BIOMASSA ALGAL	27
3.7	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE MATERIAL LIPÍDICO DE MICROALGAS	28
3.8	CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA	31
3.9	TERMOGRAVIMETRIA (TGA)	32
3.10	ESPECTROMETRIA DO INFRAVERMELHO	34
3.11	ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA MODO CHAMA	35
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>37</b>
4.1	LOCALIZAÇÃO E CARACTERÍSTICA DA ÁREA DE ESTUDO	37
4.2	COLETA DO EFLUENTE	38
4.3	REMOÇÃO E SECAGEM DA BIOMASSA ALGAL	39
<b>4.3.1</b>	<b>Remoção da biomassa por flotação</b>	<b>39</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Remoção da biomassa por centrifugação</b>	<b>41</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Secagem</b>	<b>42</b>
4.4	EXTRAÇÃO DO MATERIAL LIPÍDICO DAS MICROALGAS	42

4.5	CARACTERIZAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS MICROALGAS DA LAGOA FACULTATIVA AERADA E DE MATURAÇÃO	44
4.6	CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL LIPÍDICO POR INFRAVERMELHO DE TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	45
4.7	CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL LIPÍDICO POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)	45
4.8	CARACTERIZAÇÃO POR TERMOGRAVIMETRIA (TG) DA BIOMASSA SECA E DO MATERIAL LIPÍDICO	46
4.9	QUANTIFICAÇÃO DE FERRO E ALUMÍNIO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA MODO CHAMA (FAAS) DA BIOMASSA SECA E RESIDUAL	46
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>47</b>
5.1	AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS ESPÉCIES DE MICROALGAS DA LAGOA FACULTATIVA AERADA E DE MATURAÇÃO	47
5.2	RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES	48
5.3	ANÁLISE DO MATERIAL LIPÍDICO POR ESPECTROSCOPIA DO INFRAVERMELHO	49
5.4	ANÁLISE DO MATERIAL LIPÍDICO POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA	51
5.6	ANÁLISE POR TG/TGA DA BIOMASSA DA LAGOA FACULTATIVA AERADA E DA MATURAÇÃO	53
5.7	ANÁLISE POR TG/TGA DO EXTRATO DA LAGOA FACULTATIVA AERADA E DE MATURAÇÃO	55
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>58</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>59</b>
	ANEXO A – Comprovante de submissão do artigo	66

## 1 INTRODUÇÃO

O sistema de tratamento de esgoto por meio de lagoas de estabilização é um dos mais utilizados no Brasil, pois segundo Von Sperling (2005), apresenta como vantagens o baixo custo de implantação e simplicidade de operação. Além disso, as condições climáticas no Brasil, assim como a grande disponibilidade de áreas também favorece sua implantação. Com base nestas condições, as lagoas de estabilização são ideais para serem implementadas em cidades brasileiras de pequeno e médio porte.

Por outro lado, uma das desvantagens desse tipo de tratamento de esgoto é a alta concentração de sólidos suspensos no efluente final das lagoas, ocasionado principalmente pela presença de biomassa de algas formada naturalmente. Tal biomassa pode conter gêneros de cianobactérias potencialmente produtoras de toxinas, que podem gerar vários danos ao meio ambiente ao serem lançadas em corpos receptores (ARAUJO et al.,2016).

Todavia, essa biomassa algal pode ser removida e utilizada na agricultura, piscicultura, produção de biocombustíveis (biodiesel, bioetanol e biogás), no processo de fixação do CO<sub>2</sub>, nas indústrias e em outros fins (AHMAD et al., 2011; LEE et al., 2010). Dentre esses, destaca-se a utilização da biomassa de microalgas como fonte de energia renovável, por razão delas terem uma elevada capacidade de reprodução por unidade de área e tempo. Além disso, algumas espécies armazenam elevado teor de lipídios ou amido, que pode ser utilizado para a produção de biodiesel ou bioetanol respectivamente (TABATABAEI et al., 2011).

As microalgas apresentam rendimentos em termos de biomassa e de produção de óleo, muito superiores aos das principais oleaginosas, tradicionalmente utilizadas na produção de biocombustíveis. Podem ser cultivadas em água do mar, água salobra, águas residuais e produzidas sobre terras não agricultáveis (HUANG et al., 2010; XU et al., 2006).

Portanto, a utilização da biomassa algal de lagoas de estabilização como fonte de energia renovável tem se mostrado importante, visto ser perceptível que o mundo vem se preocupando com a crise energética ocasionada pelo uso desenfreado das fontes de combustíveis fósseis.

De acordo com os dados do relatório final do balanço energético nacional, a oferta interna de energia no Brasil ainda é liderada por fontes não renováveis (58,1%)

e, destas, 37,3% são derivadas do petróleo (BRASIL, 2016). Tal fato perpetua o aumento descontrolado dos gases do efeito estufa na atmosfera, provocando o aquecimento global (AMARO; GUEDES; MALCATA, 2011) e, conseqüentemente, esse aumento de temperatura sem controle tem ocasionado mudanças climáticas regionais e vários efeitos prejudiciais ao meio ambiente e ao ser humano (MORENGO, 2006). Diante disso, a comunidade científica tem pesquisado e desenvolvido fontes alternativas de energia menos poluentes, que reduzam os impactos ambientais e sejam economicamente viáveis para serem implantadas em larga escala.

O presente estudo resultou em um artigo científico submetido para publicação na **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental** ISSN 2238-8753, versão on-line (ANEXO A), classificada como B2 na área de Ciências Ambientais e disponível no site [http://www.portaldeperiodicos.unisul.br/index.php/gestao\\_ambiental](http://www.portaldeperiodicos.unisul.br/index.php/gestao_ambiental).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil dos constituintes metabólicos das biomassas provenientes de lagoas de estabilização.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar por meio de análise microscopia a caracterização taxonômica qualitativa e quantitativa de grupos e espécies de microalgas coletadas na lagoa de estabilização;
- Realizar a extração do óleo microalgal utilizando método misto (solvente n-hexano /agitação mecânica e banho ultrassônico);
- Verificar por meio da técnica de absorção atômica a presença de ferro e alumínio totais na biomassa antes e após a extração do óleo;
- Caracterizar por termogravimetria (TGA) a biomassa e o material lipídico, com o intuito de confirmar a presença de carboidrato e proteína, assim como, ratificar a extração de triacilglicerídeos;
- Verificar por meio da cromatografia em camada delgada os principais constituintes do óleo extraído da biomassa;
- Analisa por espectrometria na região do infravermelho com transformada de Fourier a presença dos principais grupos funcionais presente no óleo extraído da biomassa.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO

Lagoas de estabilização são biorreatores com profundidade rasa destinados a reter o efluente doméstico e industrial por um período longo o suficiente para que os processos biológicos atuem na estabilização da matéria orgânica, gerando um efluente com qualidade adequada para retornar ao meio ambiente.

De acordo com Mara (2003), lagoas de estabilização são normalmente classificadas de acordo com a atividade metabólica predominante na degradação da matéria orgânica em anaeróbia, facultativa e de maturação. Segundo Von Sperling (2013), existe outras variantes desses processos, com diferentes níveis de simplicidade, que podem combinar entre si ou com outros tipos de tratamento de esgoto, para formar sistemas em série ou paralelo e aumentar a eficiência do tratamento.

Lagoas anaeróbias são responsáveis pelo tratamento primário e caracterizam-se por receber altas cargas orgânicas. O processo de estabilização anaeróbia é lento e ocorre em quatro etapas. Na primeira, a matéria orgânica complexa é transformada em compostos mais simples, como ácidos graxos, aminoácidos e açúcares, pela ação dos microrganismos hidrolíticos. Na segunda, as bactérias acidogênicas transformam os ácidos e açúcares em compostos mais simples, como ácidos graxos de cadeia curta, ácido acético,  $H_2$  e  $CO_2$ . Na terceira, esses produtos são transformados principalmente em ácido acético,  $H_2$  e  $CO_2$ , pela ação das bactérias acetogênicas. Por fim, na quarta etapa, os microrganismos metanogênicos transformam esses substratos em  $CH_4$  e  $CO_2$  (VEEKEN et al., 2000).

Esse tipo de tratamento pode trazer algumas vantagens na hora de sua implantação, dentre elas, a possibilidade de alteração da profundidade da lagoa, já que não depende da penetração da luz solar na sua massa líquida, trazendo economia de espaço, baixo tempo de detenção e redução considerável da carga orgânica. Por outro lado, em relação às desvantagens, podemos destacar a necessidade de tratamento complementar do efluente, desprendimento de gases causadores de maus odores e problemas estéticos. Contudo, para amenizar a questão do mau odor nesse tipo de tratamento, o ideal é controlar o pH mantendo uma boa harmonia entre as fases ácida e alcalina da digestão anaeróbia. Para que esse controle seja satisfatório,

é necessário que a lagoa seja bem projetada e a concentração de sulfatos não seja elevada (MENDONÇA,1990; ANDRADE NETO,1997; NUVOLARI, 2011).

Lagoas facultativas são destinadas ao tratamento secundário do esgoto, através de mecanismos que ocorrem naturalmente em três zonas do reator: anaeróbia, aeróbia e facultativa (VON SPERLING, 2013).

A zona anaeróbia localiza-se no fundo da lagoa, onde os sólidos sedimentáveis são depositados e formam uma camada de lodo que sofre lenta decomposição da sua fração orgânica (NUVOLARI, 2011). A zona aeróbia encontra-se nas camadas superficiais do líquido e a facultativa fica em uma zona intermediária, ou seja, pode ocorrer processo aeróbio ou anaeróbio. A predominância do tipo de processo na zona intermediária vai depender do tipo de esgoto destinado ao tratamento, da operação da lagoa, do horário e do comportamento climático (KELLNER; PIRES, 1998).

De acordo com Andrade Neto (1997), as relações mutualísticas entre algas e bactérias nas lagoas facultativas são importantes para o tratamento do esgoto, visto que as bactérias, ao realizarem o processo de oxidação, liberam nutrientes (amônia e fósforo) fundamentais para o desenvolvimento das algas. O oxigênio requerido pelas bactérias para realizar o processo oxidativo aeróbico do material orgânico é fornecido pelas algas, através da fotossíntese. As bactérias predominantes que fazem o processo de oxidação são: *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp. e *Alcaligenes* sp.

De acordo com Von Sperling (2013), lagoas de maturação são também conhecidas como lagoas de polimento, pois são responsáveis pela remoção de microorganismos patogênicos (bactérias, cistos protozoários, vírus e ovos de helminto). Esse tipo de lagoa é projetada para receber efluentes advindos de lagoas facultativas ou de outros processos de tratamento. A eficiência desse tipo de tratamento deve-se ao fato dessas lagoas serem rasas e receberem uma carga orgânica baixa, pois o efluente já vem em condição pré-tratada e, com isso, facilita a penetração da luz solar nas camadas mais profundas da lagoa, assegurando, o predomínio das condições aeróbicas.

### 3.2 MICROALGAS EM LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO

As microalgas são microrganismos classificados como eucarióticos ou procarióticos fotossintetizantes que podem ser encontrados em ambientes marinhos, de água doce e terrestre (DERNER et al., 2006). Esses microrganismos podem ser

também autotróficos, ou seja, a fonte de carbono para que ocorra a fotossíntese é o CO<sub>2</sub>. Já nas espécies que se reproduzem heterotroficamente, as fontes de carbono e nutrientes devem ser introduzidas ao meio de cultura (MUTANDA et al., 2011).

Segundo Mendonça (1990), para que seja feito um estudo comparativo desses gêneros nas lagoas de estabilização, é fundamental considerar na hora da coleta as características do esgoto, mudança da intensidade luminosa e temperatura. De acordo com Palmer (1969), a especificação da flora em lagoa de estabilização é mais influenciada pela matéria orgânica presente do que certas características do corpo aquático (pH e oxigênio dissolvido) e também da intensidade luminosa, temperatura, vazão e tamanho da lagoa.

Os grupos de algas predominantes encontrados em lagoas de estabilização são cianobactérias (algas verde-azuladas), algas verdes, flagelados pigmentados e diatomáceas (MENDONÇA, 1990; JORDÃO; PESSÔA, 2011). Entretanto, dependendo do local e da posição na série de lagoas (facultativas e de maturação) podem ser encontrados outros tipos de algas dos filos *euglenophyta*, *bacillariophyta* e *chrysoophyta* (MARA et al., 1992).

Aquino, Larceda e Freitas (2010), identificaram em lagoas de estabilização em série (duas facultativas e uma de maturação), localizadas em Juazeiro do Norte, no Ceará, 23 táxons, distribuídos nas divisões Cyanobacteria, Euglenophyta, Bacillariophyta e Chlorophyta, sendo a cianobactéria *P. isothrix* a espécie de maior frequência nos três pontos de coleta analisados, tanto no período seco quanto nos meses correspondentes ao período chuvoso. Vale ressaltar que a pesquisa também identificou outros grupos, como por exemplo: clorofíceas *Chlorella vulgaris* Beijerinck e *Pandorina morum* Playfair, euglenofíceas *Euglena acus* Ehrenberg, *Lepocinclis* sp., *Trachelomonas* sp. e diatomáceas *Pennales*.

A quantificação da biomassa presente em lagoas de estabilização pode ser realizada por métodos diretos, que incluem a massa úmida e seca dos microrganismos presentes em um certo volume de amostra, ou por métodos indiretos, como a contagem e o volume das células de algas e clorofila *a*. Os métodos mais usados são os da contagem direta de microrganismos e o da extração de clorofila *a*, sendo este último o mais comum para quantificar a biomassa de algas em lagoas de estabilização (MENDONÇA, 1990).

### 3.3 APROVEITAMENTO DA BIOMASSA ALGAL DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO COMO POTENCIAL FONTE DE BIODIESEL

O aproveitamento da biomassa algal proveniente de lagoas de estabilização traz vantagem do ponto de vista ambiental, pois impossibilita que essa biomassa seja lançada da nos corpos receptores promovendo danos ambientais. Além de trazer ganhos econômicos e social caso seja aplicado para a produção de biocombustíveis ou outros subprodutos.

As lagoas de estabilização, por apresentarem na sua biomassa diferentes tipos de espécies de microalgas, podem proporcionar quantidades significativas de lipídeos que são essenciais como matéria prima para a produção de biodiesel. Mas, vale ressaltar que, a quantidade e a composição dos lipídeos de microalgas pode ser influenciada por alguns fatores. Dentre esses: o tipo de espécie, o nível de nutrientes, o meio de cultivo utilizado na produção da biomassa e as condições experimentais nas quais foram avaliadas (CARDOZO; VIEIRA; MARQUES, 2011).

De acordo Huang et al. (2010), O teor médio de lipídeos encontrados nas microalgas pode variar entre 1 e 70%, mas, sob certas condições, algumas espécies podem atingir 90% do peso seco. (CHISTI, 2007; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; HUANG et al., 2010). A Tabela 1 mostra também que o teor lipídico de algumas espécies de microalgas podem variar de 20 a 50%.

**Tabela 1 – Teor lipídico de algumas espécies de microalgas**

<b>Microalga</b>	<b>Teor de lipídeos%(m/m)</b>
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlamydomonas sp.</i>	29-72
<i>Chlorella sp.</i>	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16-37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis sp.</i>	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	20
<i>Nannochloris sp.</i>	20-35
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23

Fonte: CHISTI (adaptado), 2007

Os lipídeos das microalgas são constituídos por diferentes grupos de hidrocarbonetos de cadeia longa denominadas de ácidos graxos que podem ser gorduras saturadas, insaturadas e poliinsaturadas. Os ácidos graxos mais sintetizados pelas microalgas geralmente têm comprimentos de cadeia entre C12 a C22 átomos de carbonos. Alguns deles podem pertencer à família  $\omega$ 3 ou  $\omega$ 6 (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010). A Tabela 2 é apresentada a composição química do perfil de ácidos graxos presentes na biomassa de algumas espécies de microalgas.

**Tabela 2 – Composição química (%) dos principais ácidos graxos presentes em extratos de lipídeos de *Spirulina máxima*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, *Nannochloropsis sp.* e *Neochloris oleoabundans*.**

Ácidos graxos	<i>S.máxima</i> (% w w <sup>-1</sup> )	<i>G.vulgaris</i> (% w w <sup>-1</sup> )	<i>S.obliquus</i> (% w w <sup>-1</sup> )	<i>N.oleoabundans</i> (% w w <sup>-1</sup> )
C14:0	0,34	3,07	1,48	0,43
C16:0	40,16	25,07	21,78	19,35
C16:1	9,19	5,25	5,95	1,85
C16:2	n.d	n.d	3,96	1,74
C16:3	0,42	1,27	0,68	0,96
C16:4	0,16	4,06	0,43	7,24
C18:0	1,18	0,63	0,45	0,98
C18:1	5,43	12,64	17,93	20,29
C18:2	17,89	7,19	21,74	12,99
C18:3	18,32	19,05	3,76	17,43
C18:4	0,08	n.d	0,21	2,10
C20:0	0,06	0,09	n.d	n.d
C20:1	n.d	0,93	n.d	n.d
C20:2	0,48	n.d	n.d	n.d
C20:3	n.d	0,83	n.d	n.d
C20:4	n.d	0,23	n.d	n.d
C20:5	n.d	0,46	n.d	n.d
Saturada (%)	41,74	28,56	23,71	20,76
Insaturada (%)	51,97	51,91	54,66	64,60

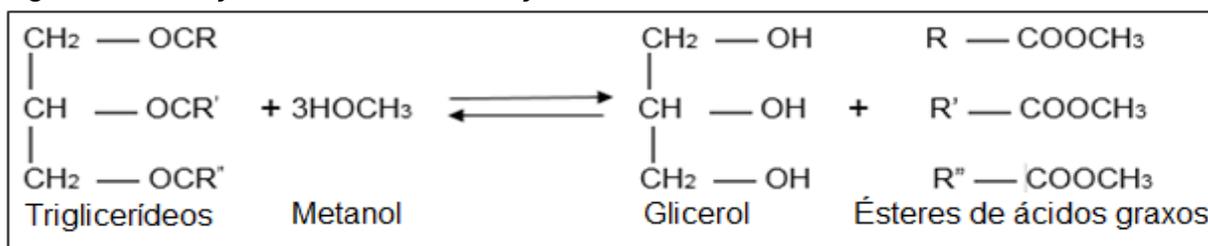
Fonte: GOVEIA; OLIVEIRA (adaptado), 2009

Thomas, Tornabene e Weissman (1984), analisando a composição de ácidos graxos em sete espécies de microalgas retiradas da água doce, mostraram que as microalgas analisadas sintetizaram ácidos graxos do tipo C14:0, C16:0, C18:1, C18:2 e C18:3. Entretanto, o tipo da espécie microalgal é que determina qual ácido graxo será formado. Como exemplos, temos o C16:4 e C18:4 produzido pela *Ankistrodesmus sp.*, o C18:4 e C22:6 pela *Isochrysis sp.*, C16:2, C16:3 e C20:5 em *Nannochloris sp.*, C16:2, C16:3 e C20:5 em *Nitzschia sp.*

Segundo Hu et al.(2008), as microalgas que apresentam em sua composição ácidos graxos saturados produzem um biodiesel de melhor estabilidade à auto-oxidação e alto número de cetano (indicador primário da qualidade do combustível e está relacionado com o tempo de atraso da ignição). No entanto, pode ocorrer o surgimento de substâncias indesejáveis a baixas temperaturas, pois são mais susceptíveis ao estado sólido, e por isso torna o biodiesel impróprio nessas condições. Já os ácidos graxos insaturados e poli-insaturados possuem boas propriedades à baixa temperatura, mesmo esses ácidos graxos sendo mais vulneráveis à oxidação. Logo, possuem problemas de instabilidade quando armazenados por muito tempo.

O biodiesel é o nome dado a compostos monoalquilésteres de ácidos graxos. A síntese para obtenção do biodiesel pode ser obtida por meio das reações de transesterificação, esterificação e hidroesterificação, porém o mais usado em escala industrial é a transesterificação ou alcoólise (Figura 1), que consiste na reação do triacilglicerídeos para um álcool de baixo peso molecular (metanol ou etanol), cuja obtenção é um produto reacional monoacilglicerídeo (biodiesel) e o glicerol (CHISTI, 2007)

Figura 1 – Reação de transesterificação



Fonte: Autoria própria (2017).

Para que essa reação reversível se complete de forma estequiométrica, é fundamental que a proporção seja 3:1 de álcool por triacilglicerídeo, para que o excesso de álcool possa deslocar o equilíbrio da reação para a formação de monoacilglicerídeo. Para obter o aumento da velocidade dessa reação são utilizados catalisadores ácidos (HCL, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HSO<sub>3</sub>-R), básicos (NaOH, KOH, carbonatos ou alcóxidos) ou enzimas (lipases). Os catalisadores ácidos possuem rendimentos mais elevados de alquiléster, mas as reações são lentas e, portanto, precisam de temperaturas altas. Os catalisadores alcalinos, por sua vez, são 4000 vezes mais rápidos e apresentam maior rendimento, seletividade e menores problemas

relacionados à corrosão dos equipamentos. Já as lipases são muito utilizadas para conversões em ésteres, mas têm um alto custo de investimento (FUKUDA; KONDO; NODA, 2001;CHISTI, 2007).

### 3.4 MICROALGAS PROVENIENTES DE EFLUENTES DOMÉSTICOS EM MANANCIASIS

As lagoas de estabilização apresentam alta concentração de sólidos suspensos no efluente final das lagoas, ocasionado principalmente pela presença de biomassa de algas formada naturalmente. Tal biomassa não sendo removida do efluente pode provocar o fenômeno de eutrofização caso seja lançado nos corpos receptores.

A eutrofização é provocada em decorrência do excesso de nutrientes (fosforo e nitrogênio) nos mananciais provocando o aumento da atividade fotossintética e conseqüentemente a proliferação da comunidade fitoplancton. Essa crescimento excessivo pode ser visto a olho nu, na maioria das vezes pela coloração esverdeada da água (Figura 2), embora haja exceções que variam da coloração amarela ao marrom ou pela formação de uma camada neustônica semelhante a um derrame de tinta acumulado na superfície (HELLER; PADUA, 2010).

Figura 2 – Eutrofização na lagoa da Boa Vista (Seta Lagoa, MG)



Fonte: Lamar, (2012)

O processo eutrófico pode ocorrer em lagos e represas, como também, em rios, embora seja menos frequente, devido às condições ambientais serem mais

desfavoráveis para o crescimento de algas e outras plantas, como turbidez e velocidades elevadas (VON SPERLING, 2005). As algas poderão atingir superpopulações, constituindo uma camada superficial impedindo a penetração da energia luminosa nas camadas inferiores do corpo d'água, causando danos ao ecossistema aquático. Segundo Smith e Schindler (2009), os principais danos causados são: alteração no sabor, no odor, na turbidez e na cor da água, e a redução do oxigênio dissolvido provocando a mortandade de peixes e outras espécies aquáticas, como também, do comprometimento na diminuição do uso da água para recreação e balneabilidade.

Além dos danos citados anteriormente, a biomassa pode conter também grupo de cianobactérias, popularmente conhecidas por algas azuis, e algumas espécies podem produzir linhagens tóxicas. A presença dessas espécies podem liberar toxinas nos corpos hídricos podendo causar riscos significativos a saúde humana, principalmente, grupos de pacientes renais crônicos (HELLER; PADUA; 2010). As toxinas produzidas pelas cianobactérias são chamadas cianotoxinas. Segundo Hitzfeld, Höger e Dietrich (2000), as cianotoxinas, dependendo da sua estrutura química, podem ser divididas em três grupos: peptídeos cíclicos (as hepatotoxinas, microcistinas e nodularina), alcaloides (neurotoxinas anatoxinas e saxitoxinas), e lipopolissacarídeos (LPS). As espécies mais frequentemente envolvidas com toxicidade são *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix rubescens*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena flosaquae*, *Planktothrix agardhii* e *Lyngbia spp.*

Entretanto, de acordo com Heller e Padua (2010), é importante destacar que a toxicidade das cianobactérias pode variar ao longo do tempo, ou seja, uma afloração tóxica pode deixar de sê-la e uma floração não tóxica passar a sê-la. Assim, é correto referir-se as espécies de cianobactérias, já relacionadas a eventos tóxicos, como potencialmente tóxicas ou produtoras de cepas tóxicas.

Diante desse contexto, várias literaturas vem reportando a importância de pesquisas mais aprofundadas em sistemas de tratamento por meio de lagoas de estabilização para detectar de forma precoce a presença de cianobactérias e suas toxinas nesses ambientes, pois estudos já demonstram a presença de cianotoxinas em lagoas de estabilização facultativas e de maturação (FURTADO et al., 2009; PASTICH et al., 2016).

### 3.5 MÉTODOS DE REMOÇÃO DE MICROALGAS

O processo de recuperação da biomassa de microalgas em lagoas de estabilização ainda se apresenta problemático e desafiador, visto que as microalgas contidas no efluente final apresentam tamanho, forma diversificada e baixa gravidade específica das células dificultando, com isso, a separação do meio de cultivo (MONTEGGIA; TESSELE, 2001).

Os métodos mais empregados para a recuperação de microalgas são: peneiramento, filtração, coagulação/floculação, centrifugação, sedimentação por gravidade e flotação por ar dissolvido (BRENNAN; OWENDE, 2010; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; GRIMA et al., 2003) ou ainda, por meio da combinação entre estes (PONIS; ROBERT; PARISI, 2003). Todavia, para a escolha de uma dessas técnicas, é importante levar em consideração as características das microalgas, o tipo de cultivo, aplicabilidade da biomassa e o custo, as quais podem afetar diretamente a quantidade de biomassa final e o custo total de produção (FRANCO et al., 2013).

Nessa seção será apresentado as técnicas de remoção de biomassa utilizadas nesse trabalho.

#### 3.5.1 Centrifugação

A centrifugação é um processo usado para separar ou concentrar materiais suspensos utilizando o efeito da gravidade sobre as partículas (incluindo macromoléculas) em suspensão. Esse método vem sendo utilizado com grande sucesso na recuperação da biomassa de microalgas por operar, de forma rápida e contínua, em grandes ou pequenos volumes de biomassa sem utilizar produtos químicos. Além disso, esse dispositivo pode ser facilmente limpo ou esterilizado para evitar a contaminação bacteriana ou incrustação no produto bruto (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010). Porém, a eficiência depende das características das células das microalgas, do tempo de aplicação da força e da profundidade do tubo da centrífuga.

De acordo com Grima et al. (2003), testes de centrifugação submetidos em laboratório utilizando efluentes de lagoas utilizando amostras variando de 500 – 1000g mostraram que cerca de 80-90% de microalgas foram recuperadas dentro de 2 a 5 min. Apesar da centrifugação ser um método eficaz na recuperação da biomassa

algal, suas principais desvantagens são o elevado custo de energia e manutenção, devido à presença de peças movimentando-se livremente. Segundo Knuckey et al. (2006), a exposição de células de microalgas às elevadas forças gravitacionais e de cisalhamento pode danificar a estrutura celular. Além também, de levar longos períodos de tempo para processar grandes volumes de biomassa.

### **3.5.2 Coagulação / Flocculação**

As microalgas, por apresentarem cargas negativas em suas superfícies e diâmetros (inferiores a 10  $\mu\text{m}$ ), dificultam a sua agregação natural em suspensão e a sua remoção de lagoas de estabilização (BRENNAN; OWENDE, 2010). A coagulação e a flocculação são dois processos que vêm sendo pesquisados e aprimorados para remoção de microalgas em diferentes tipos de lagoas de estabilização. Esses processos tem a vantagem de permitem uma rápida remoção de grandes quantidades de biomassa microalgal de diferentes meios de cultivo.

A coagulação é definida como a agregação de células como resultado do ajuste do pH ou eletrólitos e consiste em um processo de desestabilização química das partículas coloidais ou em suspensão pela adição de coagulantes que neutralizam as forças elétricas superficiais e anulam as forças repulsivas (PIMENTEL, 2007). Dentre os coagulantes mais utilizados estão polímeros orgânicos naturais e sintéticos, sais de metais, como alumínio ou cloreto férrico, sais de metal pré hidrolisados como policloreto de alumínio, cloreto de poliferro e cloreto de polidialildimetilamônia. No entanto, a incorporação de uma grande quantidade de sais de metais na biomassa pode limitar a utilização ou reutilização dessa e criar problemas de descarte do efluente. Mas, de acordo com Brentner, Eckelman e Zimmerman (2011), outros coagulantes são promissores para serem utilizados, como a quitosana, que é produzida a partir de resíduos da pesca de crustáceos, sendo considerada um coagulante renovável.

A flocculação é um processo que promove um aumento das dimensões das partículas pelo resultado das colisões entre elas, com a finalidade de formar partículas agregadas de maior tamanho (flocos), para serem removidos por meio de procedimentos baratos de remoção de partícula como sedimentação, filtração ou flotação (METCALF; EDDY, 2002). O processo de flocculação utiliza uma variedade de produtos químicos e vem sendo muito utilizado na remoção de algas das lagoas

de tratamento de águas residuais ou industrial e no tratamento de água (LIBÂNIO, 2010). Como também, tem aplicação em cultivos de microalgas. Portanto, uma grande variedade de produtos químicos tem sido estudada como agentes flocculantes.

De acordo com Grima, Ación e Meldina (2007), a eficiência da floculação/coagulação pode ser influenciado por diversos fatores. Dentre eles incluem:

- (1) A massa molar do flocculante/coagulante: Quanto maior a massa molar maior o efeito de ponte induzido pelo flocculante;
- (2) A densidade de carga do flocculante: Quanto maior a densidade de carga mais a conformação molecular, efeito de ponte e redução/neutralização das cargas superficiais da células podem ser otimizadas;
- (3) Dose do flocculante: Quanto maior a dose maior é a estabilização das partículas da biomassa;
- (4) Concentração da biomassa: Quanto maior a concentração da biomassa maior é a frequência de colisão e, por conseguinte, maior a taxa de floculação;
- (5) hidrodinâmica, a presença de um sistema de mistura aumenta a eficiência da floculação;
- (6) Meio de cultura: O pH e as forças iônicas afetam a conformação das partículas flocculantes e, portanto, o processo de floculação é afetado.

Lira (2011) realizou ensaios de floculação para remover a biomassa de *Chlorella* sp. em suspensão no meio de cultura contendo baixo teor de nitrogênio. Para a floculação, foram adicionados coagulantes sintéticos sulfatos de alumínio e férrico, em aparelho de jar-test, adotando 10 segundos como tempo de mistura rápida, 5 minutos como tempo de mistura lenta e variando o tempo de sedimentação em 15, 30 e 60 minutos. Para ambos os coagulantes, a uma concentração de  $0,50 \text{ g.L}^{-1}$ , foram obtidas eficiências de remoção de microalgas em termos de unidade celular superiores a 75% para todos os tempos de sedimentação analisados.

### 3.5.3 Flotação

A flotação é uma técnica de separação de misturas que consiste na introdução de bolhas de ar a uma suspensão de partículas. Com isso, verifica-se que as partículas aderem às bolhas, formando uma espuma que pode ser removida da solução e separando seus componentes de maneira efetiva (MASSI et al.,2008).

Vale salientar que, dependendo do tamanho das bolhas geradas no processo de flotação, a metodologia pode ser dividida em três técnicas: flotação por ar dissolvido (FAD), flotação por ar disperso e flotação eletrolítica.

Dentre as mais utilizadas em lagoas de estabilização, destaca-se o sistema de flotação por ar dissolvido (FAD), que consiste em separar as partículas ou agregados por meio da adesão de microbolhas de ar de 10 a 100 µm de diâmetro na superfície das partículas ou agregados (El-KAYAR et al., 1993). Essas bolhas são geradas a partir da saturação do efluente com o ar em tanques ou câmaras sob pressão de várias atmosferas, seguido por súbita descompressão para a pressão atmosférica, após ser liberado por um dispositivo de constrição de fluxo ou válvulas, favorecendo a adesão das microbolhas às partículas e fazendo com que haja remoção por movimento ascendente (NUNES; FRANÇA; COUTO, 2007).

O estudo realizado por Oliveira (2013) utilizando flotação por ar dissolvido para avaliar a remoção algal em um sistema de lagoas de estabilização (lagoas facultativas e de maturação), situado na cidade de Aquiraz em Fortaleza, constatou uma boa eficiência do sistema, pois conseguiu remover 98% dos organismos fitoplanctônicos utilizando policloreto de alumínio (100 ppm e 120 ppm) e polímero catiônico (1ppm) como coagulantes.

### 3.6 MÉTODOS DE SECAGEM DA BIOMASSA ALGAL

A remoção de umidade da biomassa algal é uma das etapas indispensáveis, pois têm como finalidades auxiliar na ruptura celular das microalgas para a liberação dos metabólicos de interesse e conservar a biomassa. Estudos demonstram que a extração com solventes utilizando a biomassa seca tem demonstrado uma maior recuperação de material lipídico do que a biomassa úmida (BRENNAN; OWENDE, 2010).

Os processos de secagem e/ou desidratação mais utilizados como pré-tratamento para a extração de lipídeos são: pulverização (*spray-drying*), tambor de secagem (*drum drying*), secagem ao sol, liofilização e estufa de secagem (BRENNAN; OWENDE, 2010; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; GRIMA et al., 2003).

O método de mais baixo custo é a secagem ao sol, aonde a biomassa fica expostas em grandes áreas abertas, contudo apresenta desvantagens como: limitação do teor de umidade da biomassa, necessidade de área de superfícies

elevada e longos períodos de secagem, o que pode provocar a fermentação da biomassa, e conseqüentemente, a perda do material (BRENNAN; OWENDE, 2010). Já as estufas elétricas tem a vantagem de secar a biomassa de modo relativamente mais rápido do que a secagem ao sol. Dessa maneira, diminuindo a probabilidade de eventuais riscos com contaminação e degradação da biomassa. Entretanto, as estufas elétricas são mais onerosas e com isso aumentando o custo-benefício final de produção (GULDHE et al.,2014).

A liofilização consiste no congelamento da biomassa algal e remoção da sua umidade por sublimação. Esse processo de secagem permite que a biomassa não seja exposta a altas temperaturas, e conseqüentemente não degrade os seus principais constituintes metabólicos intracelulares (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010). Portanto, a liofilização é um dos métodos mais eficientes na secagem da biomassa algal, no entanto, tem a desvantagem de ser um processo inviável em escala comercial devido ao seu custo elevado.

Já o spray dryer consiste na pulverização da amostra em uma câmara submetida a uma corrente de ar quente. Essa tipo de procedimento vem sendo muito utilizado para secagem de algas para ser comercializado como alimento humano. Entretanto as suas desvantagens são a possibilidade de romper células intactas das algas em seu processo de atomização a alta pressão e o alto custo de investimento. Enquanto que o método de tambor de secagem (transferência de calor para a amostra das paredes internas do cilindro do tambor) exige menos energia e menor investimento em comparação ao spray dryer (SHOW; LEE; CHANG, 2013).

### 3.7 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE MATERIAL LIPÍDICO DE MICROALGAS

Vários métodos de extração de óleo microalgal vêm sendo estudas e desenvolvidas a fim de aperfeiçoar a melhor metodologia a ser utilizada para romper a parede celular das algas e liberar os metabólitos de interesse. Para isso, faz-se necessário avaliar alguns critérios na hora da escolha da técnica, tais como: eficiência, precisão, custo-benefício, facilidade de operar, capacidade de produção, reprodutibilidade e o tipo de espécie.

Os métodos de rompimento celular são divididos em mecânicos que incluem o emprego de ultrassom, micro-ondas, autoclave, homogeneizadores, soxhlet e prensagem mecânica e os não mecânicos que englobam o uso de solventes

orgânicos, choque osmótico e enzimáticos (CHISTI, 2007; LOPES et al., 2014; GREENWELL et al., 2010). O método utilizando solventes orgânicos é o mais utilizado para a extração de material lipídico, pois apresenta o menor custo, maior penetrabilidade na parede celular e maior poder de carreamento da fase lipídica. Para tanto, é necessário avaliar os seguintes parâmetros: polaridade do solvente, temperatura e pressão (MERCER; ARMENTA, 2011).

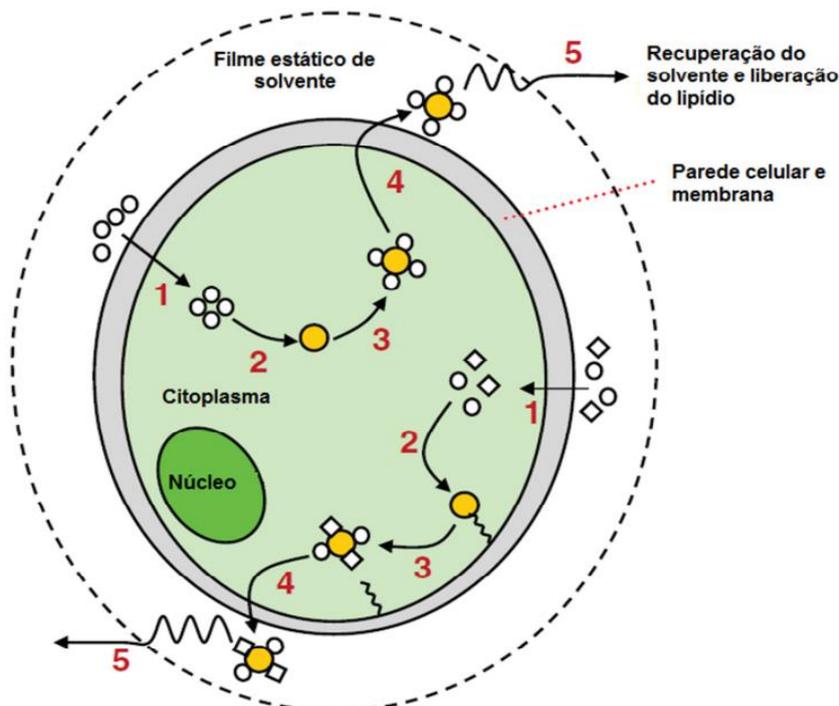
De acordo com Marcer e Armenta (2011), um solvente adequado para extração de óleo de microalgas deve ser insolúvel em água, ter o potencial de solubilizar, preferencialmente os compostos de interesse, apresentar um baixo ponto de ebulição para facilitar sua remoção após a extração e ter uma densidade consideravelmente diferente da água. Além disso, para o processo custo-eficácia, deve ser facilmente obtido, bem como barato e reutilizável. Devido a estas qualidades, o hexano é tipicamente o solvente de escolha para extrações em grande escala.

Os principais mecanismos encontrados na remoção do material lipídico de algas por solventes orgânicos está esquematizado na Figura 1 e está dividida em 5 fases. Quando a célula da microalga é exposta a um solvente orgânico apolar, como hexano ou clorofórmio, o solvente penetra pela membrana até o citoplasma (fase 1) e interage com os lipídios neutros por forças de van der Waals (fase 2) para formar um complexo orgânico solvente-lipídio (fase 3). Este complexo, dirigido por um gradiente de concentração, difunde-se através da membrana celular (fase 4) e o filme de solvente orgânico que circunda a célula (fase 5) para o volume de solvente recuperado. Como resultado, os lipídios neutros são extraídos a partir das células e ficam dissolvidos no solvente orgânico apolar. Uma estática película de solvente orgânico é formada devido à interação entre o solvente orgânico e a parede celular. Esta película circunda a célula algal e permanece inalterada por qualquer fluxo de solvente ou agitação (HALIM; DANQUAH; WEBLEY, 2012).

Entretanto, alguns lipídios neutros são encontrados no citoplasma complexados com lipídios polares e ligados às proteínas da membrana celular por ligações de hidrogênio e, dessa forma, as fracas interações de van der Waals não conseguem romper essas ligações. De outra forma, os solventes orgânicos polares, como o metanol e o isopropanol, são capazes de romper as associações entre lipídios e proteínas ao formarem ligações de hidrogênio com os lipídios polares no complexo. Este mecanismo também se encontra elucidado na parte inferior da Figura 3 é dividido em 5 fases. Os solventes orgânicos (polares e apolares) penetram pela membrana

até o citoplasma (fase 1) e interagem com o complexo lipídico (fase 2). Durante esta interação, o solvente apolar circunda o complexo lipídico e faz associações de van der Waals com os lipídios neutros, enquanto os solventes polares formam ligações de hidrogênio com os lipídios polares. As ligações de hidrogênio são fortes o suficiente para deslocar as associações entre lipídios e proteínas que ocorrem entre o complexo e a membrana celular, formando-se então um complexo solvente-lipídios (fase 3) que atravessa a membrana e sai da célula (fase 4). Uma película estática de solvente orgânico é formada devido à interação entre o solvente orgânico e a parede celular. Esta película circunda a célula algal e permanece inalterada por qualquer fluxo de solvente ou agitação (HALIM; DANQUAH; WEBLEY, 2012). Portanto, a mistura de um solvente orgânico polar com um solvente orgânico apolar melhora a extração do lipídio neutro associado à membrana. Contudo, o processo também leva, inevitavelmente, à co-extração dos lipídios polares.

Figura 3 – Diagrama esquemático dos mecanismos de extração de lipídios por solventes orgânicos



Fonte: HALIM; DANQUAH; WEBLEY(adaptado), 2012

Nota: Na parte superior da célula: mecanismo dos solventes orgânicos apolares. Na parte inferior da célula: mecanismo da mistura de solventes orgânicos polares e apolares. Lipídio, solvente orgânico●apolar □ solvente orgânico polar◇. Ambos os mecanismos são descritos em 5 fases: fase 1: penetração do solvente através da membrana celular, fase 2: interação do solvente orgânico com o lipídio, fase 3: formação do complexo solvente-lipídio, fase 4: difusão do complexo solvente lipídio

através da membrana celular, fase 5: difusão do complexo solvente lipídio através do filme de solvente orgânico para o processo de recuperação do solvente e liberação do lipídio.

Outra metodologia muito utilizada também é a Folch, pois utiliza uma mistura de clorofórmio e metanol (2:1 v/v), seguida pela adição de solução salina de KCl, visando uma melhor separação das fases lipídica e aquosa. Entretanto em 1959, este método foi modificado por Bligh e Dyer, tornando-se mais rápido tanto para extração quanto para a purificação dos lipídios totais, no qual foi utilizado clorofórmio, metanol e água na proporção de 2:1:0,8 v/v. (FOLCH; LEES; STANLEY, 1957; BLIGH; DYER, 1959).

Vieira et al. (2011), ao pesquisar sobre a extração e a caracterização do óleo de microalgas utilizando o método Folch com adaptações, em lagoas de estabilização na ETE Vila União, Palmas – TO, conseguiu 16% de teor de material lipídico recuperado a partir das microalgas da lagoa facultativa.

Vale ressaltar, que de acordo com Gomes et al. (2015), a associação de métodos mecânicos e não mecânicos (banho ultrassônico/agitação mecânica/n-hexano) também proporciona aumentos significantes do teor de material lipídico extraído da biomassa. De acordo com o próprio autor, isso se deve a tensão do cisalhamento gerada pelas lâminas do agitador associado a cavitação, intensificando ainda mais a ruptura da parede celular.

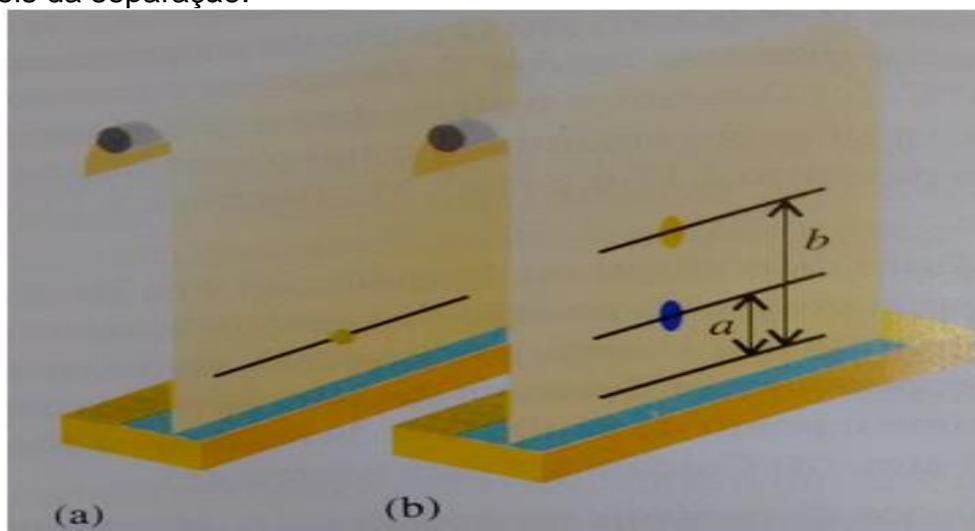
### 3.8 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A Cromatografia em camada delgada (CCD) consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido sobre uma superfície plana. Esse método apresenta as seguintes vantagens: fácil compreensão e execução, separação em breve espaço de tempo, versatilidade e baixo custo (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997).

De acordo com Atkins e Jones (2001), o procedimento de análise por CCD consiste em colocar uma gota de solução na parte inferior de um suporte adsorvente, tal como uma tira de papel, que é chamado de fase estacionária. Um solvente chamado de fase móvel é adicionado debaixo da mancha e o solvente é absorvido no suporte. À medida em que o solvente começa a atravessar o suporte, as matérias na mancha começam a deslocar para cima, com velocidade que depende de quão

fortemente são adsorvidos pelo suporte (Figura 4). Na adsorção, o soluto adere à superfície. Ou seja, ocorre uma extração contínua entre o suporte e o solvente, que é chamado de solvente transportador. Os solutos que são atraídos mais fortemente pelo solvente do que o suportes são os que se movem mais rapidamente. Cada substancia é identificada por seu fator de retenção ( $R_f$ ).

Figura 4 – Representa dois estágios de separação de uma mistura de dois componentes mediante cromatografia em papel. (a) Antes da separação. (b) Depois da separação.



Fonte: ATKINS; JONES, (2001)

Nota: Os valores relativos as distancias a e b são usados para identificar os componentes.

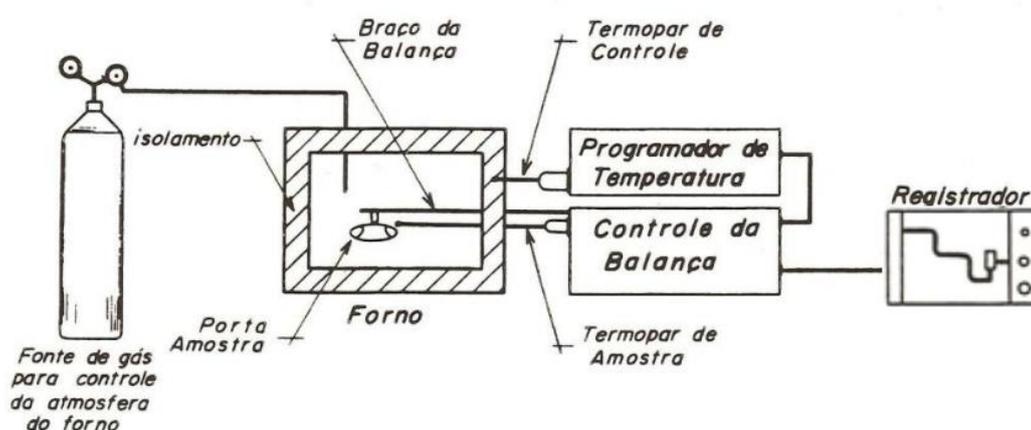
O CCD vem sendo muito utilizado para caracterizar de forma simples a presença de lipídeos em óleos extratos de microalgas com o intuito de reutilizá-los como matéria prima para a produção de biodiesel (SANTOS, 2013).

### 3.9 TERMOGRAVIMETRIA (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) é um método que monitora a mudança de massa de uma amostra em função do tempo ou temperatura (LUANGKIATTIKHUN; TANGSATHITKULCHAI; TANGSATHITKULCHAI, 2008). Enquanto que, a termogravimétrica derivada (DTG) é um arranjo matemático, no qual a derivada da variação de massa em relação ao tempo ( $dm/dt$ ) é registrado em função da temperatura ou tempo. Em outras palavras, a DTG é a derivada primeira da TGA (DENARI; CARVALHEIRO, 2012).

O equipamento da análise termogravimétrica é composto basicamente por uma termobalança que permite a pesagem contínua de uma amostra em função da temperatura, ou seja, à medida que ela é aquecida ou resfriada. Os principais componentes de uma termobalança são: balança registradora, forno, suporte de amostra e sensor de temperatura, programador de temperatura do forno, sistema registrador e controle da atmosfera do forno. A Figura 5 representa um diagrama de um equipamento de termogravimetria genérico. (DENARI; CARVALHEIRO, 2012).

Figura 5 - Diagrama de um equipamento para análises termogravimetria



Fonte: DENARI; CARVALHEIRO, (2012)

Geralmente a razão de aquecimento pode atingir  $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$  até  $100^{\circ}\text{C min}^{-1}$  depende do fabricante. A temperatura final vai depender do forno, podendo chegar a, até,  $2000^{\circ}\text{C}$ . A sensibilidade é da ordem de  $0,1\mu\text{g}$ , geralmente com capacidade de até  $1\text{g}$ . (DENARI; CARVALHEIRO, 2012). Os fatores que mais comuns que podem afetar as medidas de TGA/DTG estão representados na Tabela 3

**Tabela -3 Principais fatores que podem afetar as medidas de TGA/DTG**

Fatores Instrumentais	Fatores da Amostra
Razão de aquecimento do forno	Quantidade de amostra
Velocidade de registro (papel)	Solubilidade dos gases evolvidos
Atmosfera do forno	Tamanho das partículas e calor de reação
Geometria do suporte de amostras	Empacotamento da amostras
Sensibilidade da balança	Natureza da amostra
Composição do suporte de amostra	Condutividade térmica

Fonte: DENARI; CARVALHEIRO, (2012).

A TG vem sendo muito utilizada na caracterização de lipídeos, proteínas e carboidratos. Além disso, trazendo informações qualitativas relevantes sobre a composição do material lipídico extraídos e a presença de possíveis presença de umidade nas amostras (GOMES et al., 2015).

### 3.10 ESPECTROMETRIA DO INFRAVERMELHO

A espectroscopia de infravermelho (espectroscopia IV) é um tipo de espectroscopia de absorção que usa a região do infravermelho do espectro eletromagnético. Como as demais técnicas espectroscópicas, ela pode ser utilizada para identificar e quantificar substâncias (SKOOG et al., 2009). A região do infravermelho médio compreendida entre 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  é a mais utilizada para caracterização de compostos orgânicos. Nessa região, ocorrem somente transições de energia vibracional por ser a radiação nesta região insuficientemente energética para promover transições eletrônicas. As vibrações induzidas por radiação infravermelho compreende estiramentos e tensionamentos de ligações inter-atômicas e modificações de ângulos de ligações (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

O instrumento que obtém o espectro de absorção no infravermelho de um composto é denominado de espectrofotômetro. Os dois tipos de espectrofotômetros de infravermelho mais utilizado em laboratório são: instrumentos dispersivos e de transformada de Fourier. O segundo espectrofotômetro foi escolhido nessa pesquisa, por que produz um espectro muita mais rápido do que os instrumentos dispersos (PAVIA, 2010).

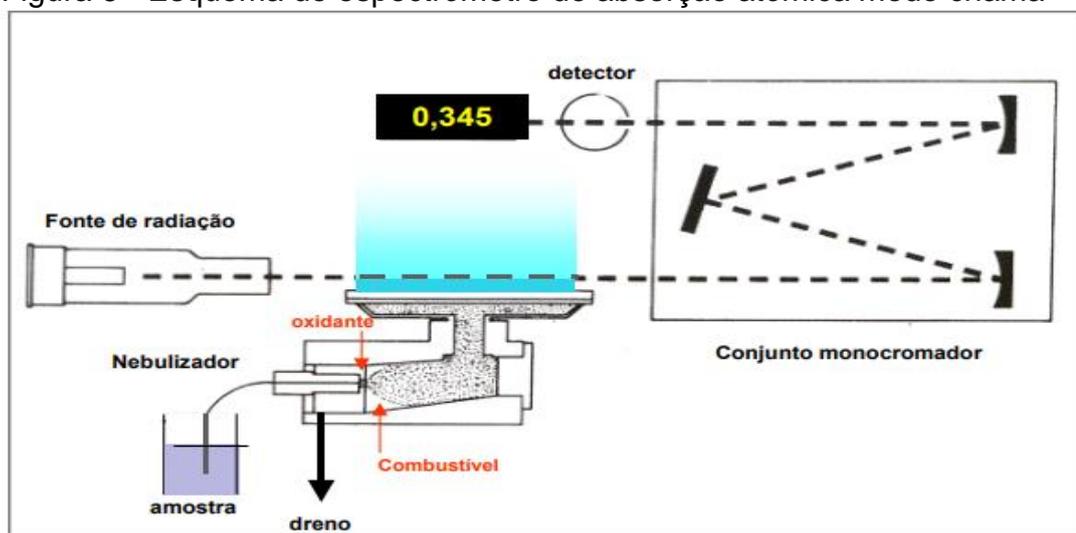
Nos espectrômetros de transformada de Fourier o traçado do caminho óptico produz um padrão chamado de interferograma, que é um sinal complexo, mas seu padrão em forma de ondas contém todas as frequências que formam o espectro infravermelho. Um interferograma é essencialmente um gráfico de intensidade *versos* tempo. Entretanto, muitos pesquisadores preferem um espectro que seja um gráfico de intensidade *versus* frequência. Uma operação matemática conhecida como transformada de Fourier pode separa as frequências das absorções individuais contidas no interferograma, produzindo um espectro virtualmente idêntico as obtido com um espectrômetro disperso. A vantagem de IV-FT é que ele produz um interferograma em menos de um segundo, sendo, assim, possível coletar dezenas de interferogramas da mesma amostra e guardá-las na memória de um computador.

Além disso, quando se realiza uma transformada de Fourier na soma dos interferogramas guardados, pode-se obter um espectro com uma razão melhor de sinal/ruído. Portanto, o IV-FT tem maior velocidade e maior sensibilidade do que um instrumento dispersivo (PAVIA, 2010).

### 3.11 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA MODO CHAMA

O princípio fundamental da espectrometria de absorção atômica (AAS) envolve a medição da absorção da intensidade da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação primária, por átomos gasosos no estado fundamental. Essa técnica tem o objetivo de determinar de forma quantitativa elementos (metais, semi-metais e alguns não metais) em uma ampla variedade de amostras, tais como, materiais biológicos (tecidos e fluidos), ambientais (água, solo, efluentes, sedimentos e plantas) alimentos, geológicos, tecnológicos, etc. (KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004). Os componentes básicos de um espectrômetro incluem fonte de radiação, sistema de atomização, conjunto monocromador, detector e processador (Figura 6).

Figura 6 - Esquema de espectrômetro de absorção atômica modo chama



Fonte: KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, (2004)

Os dois tipos de atomizadores mais usados são a chama e o forno. A espectrometria de atômica com chama é a técnica mais utilizada para análises elementares em níveis de mg/L. O atomizador é a parte mais importante do equipamento, pois neste dispositivo serão gerados os átomos gasosos no estado

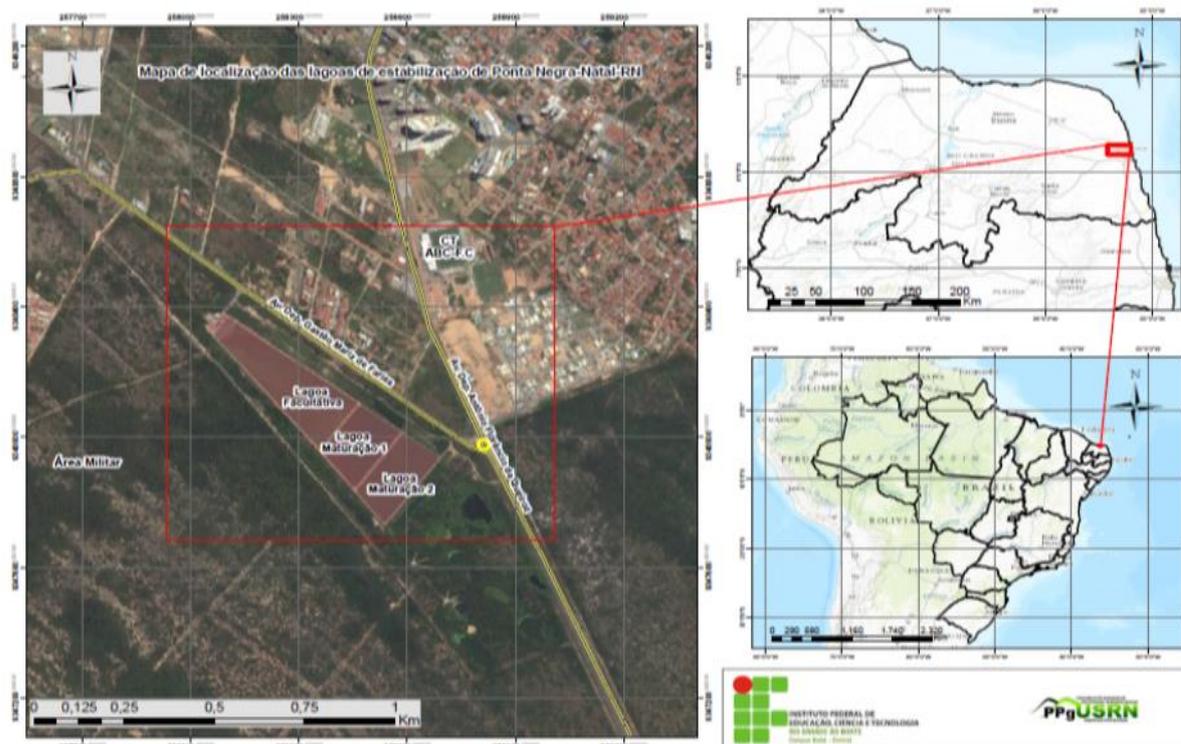
fundamental, que absorvem a radiação de comprimento de onda característico proveniente da fonte de radiação e conseqüentemente, ser determinada a concentração do elemento de interesse (KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERÍSTICA DA ÁREA DE ESTUDO

A estação de tratamento de esgoto (ETE) de Ponta Negra foi construída no ano de 2000 às margens da Avenida Rota do Sol no Bairro de Ponta Negra, em confluência com a avenida que dá acesso ao Bairro Cidade Verde no município de Natal/RN. Suas coordenadas aproximadas são 258.117m E e 9.348.388m N, conforme a Figura 7.

Figura 7 – Localização da estação de tratamento de esgoto de Ponta Negra



Fonte: GOOGLE EARTH, (2017).

A ETE é composta por unidades de pré-tratamento (gradeamento, caixa de areia e calha Parshall) e tratamento biológico secundário (reatores tipo lagoas facultativa aerada seguida por duas lagoas de maturação). O efluente tratado é infiltrado através de valões em terreno adjacente à última lagoa de maturação. A ETE atende a uma população predominantemente de classe média-alta e foi dimensionada para uma vazão média de final de plano de 134 L.s<sup>-1</sup>.

## 4.2 COLETA DO EFLUENTE

A coleta do efluente foi realizada semanalmente na última caixa de distribuição de vazão da lagoa facultativa aerada (Figura 8) e na caixa de distribuição de vazão final da segunda lagoa de maturação (Figura 9), das 8h às 10h, no período de maio a agosto de 2016, totalizando 18 coletas.

Figura 8 – Caixa de distribuição de vazão da segunda lagoa facultativa aerada da ETE Ponta Negra



Fonte: Autoria própria (2017).

Figura 9 – Caixa de distribuição de vazão da segunda lagoa de maturação da ETE Ponta Negra



Fonte: Autoria própria (2017).

Após a coleta, o efluente foi armazenado em recipientes de polietileno com tampa de capacidade para 5 litros. Em seguida, foram armazenados em caixas térmicas mantendo-se uma temperatura de, aproximadamente, 4°C e enviadas ao Laboratório de Toxicologia do Instituto Federal de Ciências e Tecnologia do Rio

Grande do Norte (IFRN), campus Natal Central, para o processo de remoção da biomassa algal.

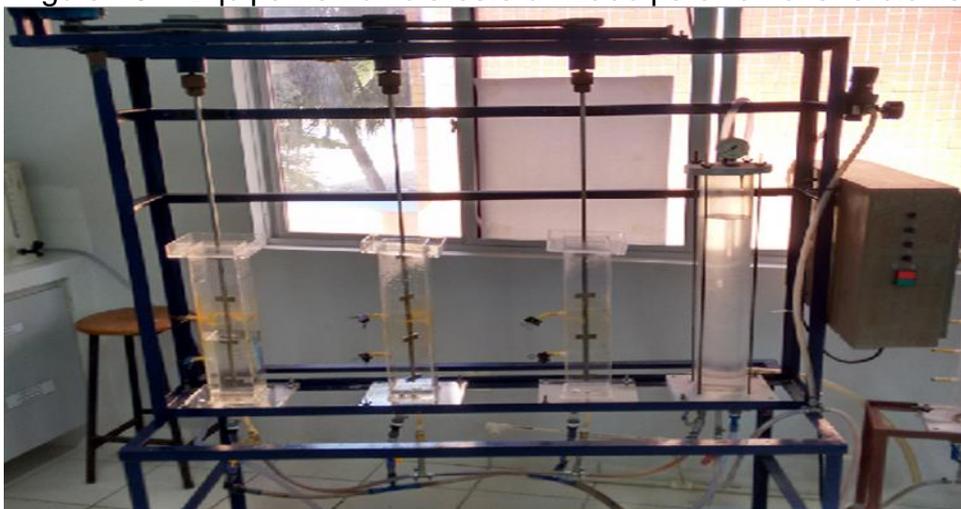
### 4.3 REMOÇÃO E SECAGEM DA BIOMASSA ALGAL

O processo de coleta e separação da biomassa do efluente da lagoa de estabilização foram utilizados os métodos de centrifugação e flotação por ar dissolvido (FAD). Vale ressaltar que os processos de remoção e secagem da biomassa algal foram realizados no mesmo dia da coleta do efluente.

#### 4.3.1 Remoção da biomassa por flotação

O equipamento flotateste utilizado para a remoção da biomassa é composto por três colunas de flotação (reator) com capacidade para 3 litros cada, juntamente com uma câmara de saturação com capacidade para 4 litros, todas confeccionadas em acrílico para a melhor visualização do processo. Para cada reator há uma haste metálica interligada ao misturador com mostrador digital, que permite o emprego de uma rotação predeterminada resultando em diferentes gradientes de velocidade (Figura 10).

Figura 10 – Equipamento flotateste utilizado para remover a biomassa



Fonte: Autoria própria (2017).

Para a realização da remoção da biomassa por flotação, inicialmente foram separadas amostras do efluente da lagoa facultativa aerada e de maturação em bequeres de polipropileno de 4 litros. Após esse procedimento, as amostras foram

submetidas à correção do pH utilizando solução de ácido sulfúrico 5N e hidróxido de sódio 1N, conforme o coagulante utilizado (Tabela 4). Os parâmetros utilizados na correção do pH das amostras foram baseados em estudos já realizados por Brito (2016)

**Tabela 4 – Amostras e pH utilizados na flotação**

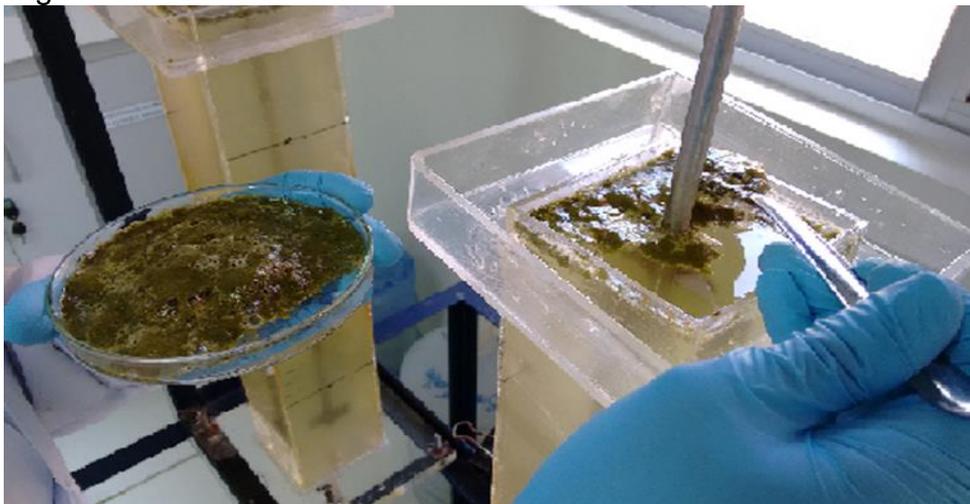
<b>Tipo de lagoa</b>	<b>Coagulante</b>	<b>Fórmula química do coagulante</b>	<b>Sigla da amostra</b>	<b>pH de coagulação e floculação</b>
Lagoa facultativa aerada (LFA)	Policloreto de alumínio (PAC)	(Aln (OH)m Cl <sub>3</sub> n-m) 30% de alumínio	LFA - PAC	7,0
Lagoa facultativa aerada (LFA)	Cloreto Férrico (CF)	FeCl <sub>3</sub>	LFA - CF	5,5
Lagoa de maturação (LM)	Policloreto de alumínio (PAC)	(Aln (OH)m Cl <sub>3</sub> n-m) 30% de alumínio	LM - PAC	7,0
Lagoa de maturação (LM)	Cloreto Férrico (CF)	FeCl <sub>3</sub>	LM - CF	5,5

Fonte: Autoria própria (2017).

Após a correção do pH foram colocadas, aproximadamente, 2 litros de amostra em cada coluna de flotação do equipamento. Em seguida, a câmara de saturação foi preenchida com água e depois com ar comprimido até ficar saturada à uma pressão em torno de 4 Bar, por um período de 20 minutos. Para a etapa de coagulação foi estabelecido um gradiente de velocidade de  $274 \text{ s}^{-1}$  e uma rotação de 220 rpm na mistura rápida com um tempo de 20 segundos. Já em relação ao processo de floculação foi realizado uma mistura lenta fixando um gradiente de  $63 \text{ s}^{-1}$  e uma rotação de 83 rpm com um tempo de 15 minutos. Os coagulantes foram adicionados no início da mistura rápida na dosagem de 100 mg/L para o policloreto de alumínio e 75 mg/L para o cloreto férrico. As doses de coagulantes e gradientes de velocidade estabelecidas nessa pesquisa também foram baseadas nos estudos de Brito (2016).

Após a floculação, os agitadores eram desligados e em seguida injetada água saturada nas colunas para o processo de flotação. O sobrenadante de biomassa era retirada da coluna com o auxílio de uma espátula. Posteriormente, a biomassa era transferida para uma placa petri de 100 mm x 15 mm devidamente identificada (Figura 11).

Figura 11 – Biomassa flotada



Fonte: Autoria própria (2017).

#### 4.3.2 Remoção da biomassa por centrifugação

Para a recuperação da biomassa por centrifugação foi utilizado uma centrífuga com 12 tubos de ensaio com capacidade de 15 ml (Figura 12). Foi utilizada rotação de 2000 rpm em um tempo de 5 min para a total concentração da biomassa. Para esse procedimento, foram realizados vários ciclos de centrifugação e em cada um deles foram utilizados 180 mL de cada amostra da lagoa facultativa aerada (LFA) e da lagoa de maturação (LM). No total foram centrifugados 20 L de cada amostra. Após a retirada do sobrenadante dos tubos de ensaios, a biomassa recuperada, foi colocada em placas de petri de 100 mm x 15 mm e devidamente identificadas.

Figura 12 – Centrífuga utilizada para remover a biomassa



Fonte: Autoria própria (2017).

### 4.3.3 Secagem

A biomassa recuperada pelos métodos de flotação e centrifugação foram secas em estufa de 20 L com circulação de ar forçado da marca Nova Ética a uma temperatura de 60 °C. Passadas as 24 h iniciais, a cada 1h as amostras eram pesadas até a obtenção de um peso constante, evidenciando que a biomassa estaria devidamente seca. As amostras de biomassa seca eram armazenadas em sacos plásticos de 5 cm por 10 cm, devidamente etiquetadas (Figura 13) e refrigeradas a - 2 °C.

Figura 13 – Armazenamento da biomassa seca



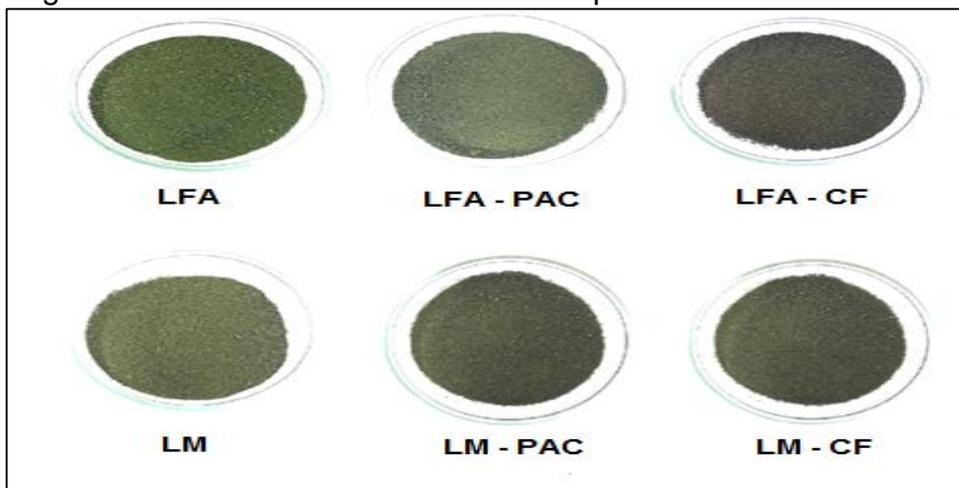
Fonte: Autoria própria (2017).

## 4.4 EXTRAÇÃO DO MATERIAL LIPÍDICO DAS MICROALGAS

A extração do material lipídico foi realizada utilizando seis amostras: (LFA), (LFA-CF), (LFA-PAC), (LM), (LM-CF) e (LM-PAC). Cada amostra passou pelo processo de pulverização com o auxílio de um almofariz e pistilo, e para um melhor controle de sua granulometria, foi homogeneizada pela passagem numa peneira de 300  $\mu\text{m}$  de abertura (Figura 14).

Para o processo de extração foi utilizado 1 grama da amostra, adicionados a um recipiente de vidro com capacidade para 500 mL e adicionado 210 mL de n-hexano PA. Em seguida, esse sistema foi submetido à agitação mecânica com rotação de 1500 rpm acoplada a um banho ultrassônico de 40 kHz por 2,5 h (Figura 15).

Figura 14 – Biomassa seca macerada e peneirada



Fonte: Autoria própria (2017).

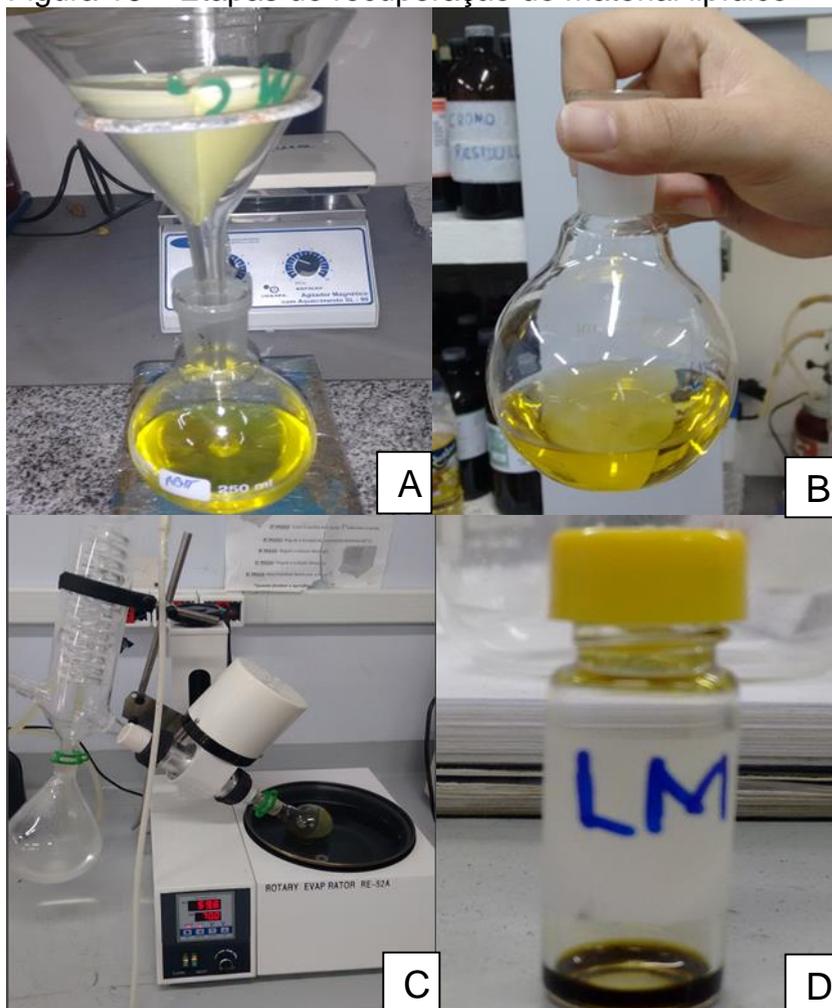
Figura 15 – Sistema de agitação mecânica associado ao banho ultrassônico



Fonte: Autoria própria (2017).

Posteriormente, a amostra foi submetida a um sistema de filtração simples utilizando um papel filtro quantitativo (J Prolab) com gramatura de  $80 \text{ g/m}^2$  e poros de, em média,  $8 \mu\text{m}$  (A). O filtrado foi colocado em um balão de fundo chato de 250 mL, previamente pesado, para quantificar o rendimento da reação (B). O balão com o material lipídico e n-hexano PA foi colocado em um evaporador rotativo durante 10 min a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  para a total evaporação do n-hexano PA (C). Por fim, o material lipídico concentrado no balão foi pesado na balança analítica e transferido para um recipiente devidamente etiquetado (D) e refrigerado. Todos os processos envolvidos na recuperação do material lipídico são mostrados na figura 16.

Figura 16 – Etapas de recuperação do material lipídico



Fonte: Autoria própria (2017).

O cálculo do teor de material lipídico extraído foi feito em duplicata e determinou-se a média e o desvio padrão das medidas. O teor lipídico foi calculado de acordo com a (Equação 1):

$$\text{Rendimento (\%)} = [\text{MML}/\text{MBS} \times 100] \quad (1)$$

Onde: MML é a massa do material lipídico e o MBS é a massa da biomassa seca.

#### 4.5 CARACTERIZAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS MICROALGAS DA LAGOA FACULTATIVA AERADA E DE MATURAÇÃO

Para a identificação das microalgas, as análises foram feitas no Laboratório de Toxicologia do Instituto Federal de Ciências e Tecnologia do Rio Grande do Norte

(IFRN), campus Natal Central. Foram coletadas amostras em uma frequência mensal, fixadas com solução de lugol acético. Foram utilizados microscópio óptico (aumento de 1000x) e microscópio invertido (aumento de 400x), para a contagem e identificação, sempre que possível, em nível de espécie, através da análise de características morfológicas e morfométricas. Os indivíduos (células, colônias, cenóbios, filamentos) foram enumerados em campos aleatórios, utilizando a técnica de sedimentação (UTERMÖHL, 1958; UHELINGER, 1964). O processo foi finalizado com o volume sedimentado, sendo definido de acordo com a concentração de algas.

#### 4.6 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL LIPÍDICO POR INFRAVERMELHO DE TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A análise por espectroscopia do material lipídico extraído das amostras de biomassa foi realizada no Instituto de Química, na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), em um espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), cujo modelo é IRAffinity fabricado pela Shimadzu e acoplado a um módulo HATR MIRacle com prisma de ZnSe. Os espectros do infravermelho abrangeram a faixa de 700 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  e foram adquiridos com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 32 scans/min.

#### 4.7 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL LIPÍDICO POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

As análises por cromatografia em camada delgada dos materiais lipídicos extraídos das biomassas foram realizadas no Instituto de Química, na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), usando placas de alumínio ALUGRAM SIL G/UV254 de 20 x 20 cm de dimensões da marca MACHEREY – NAGEL, ativadas a 100 °C.

Para obtenção do fator de retenção ( $R_f$ s), foram utilizados como padrão de triglicerídeos e ácidos graxos o óleo de soja comercial e ácido esteárico ( $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ ) P.A., respectivamente. Os mesmos foram aplicados sobre as placas cromatográficas, juntamente com as amostras. Posteriormente, a placa foi colocada em uma cuba de vidro alta vertical (66 x 60 x 100 mm) com tampa, no qual já estava contido o eluente hexano/éter etílico/ácido acético glacial (80:20:1). Em seguida, as placas cromatográficas foram reveladas em vapor de iodo e os ( $R_f$ s) determinados de acordo com a Equação 2.

$$R_f = d_s/d_m \quad (2)$$

O Fator de retenção ( $R_f$ ) é a razão entre a distância percorrida pela substância em questão ( $d_s$ ) e a distância percorrida pela fase móvel ( $d_m$ ).

#### 4.8 CARACTERIZAÇÃO POR TERMOGRAVIMETRIA (TG) DA BIOMASSA SECA E MATERIAL LIPÍDICO

As análises das amostras da biomassa seca por termogravimetria foram realizadas no Centro de Tecnologias do Gás e Energias Renováveis – Ctgás, e o material lipídico na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Em ambas as análises foi utilizado o equipamento SDT-Q600 da marca TA Instruments. Os parâmetros para análise foram: faixa de temperatura 1000 °C, taxa de aquecimento: 20 °C/min, atmosfera de N<sub>2</sub>, vazão do gás: 50 mL/min, cadinho de platina e 15 mg da massa seca de cada amostra da biomassa e do extrato.

#### 4.9 QUANTIFICAÇÃO DE FERRO E ALUMÍNIO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA MODO CHAMA (FAAS) DA BIOMASSA SECA E RESIDUAL

As análises das amostras da biomassa seca e residual por espectrometria de absorção atômica modo chama foram realizadas no Centro de Tecnologias do Gás e Energias Renováveis – Ctgás. A metodologia de abertura adotada para as amostras foi o EPA 3051A e as análises realizadas conforme as metodologias *Standard Methods* 3113B, para alumínio, e 3111B, para ferro. Para a calibração do espectrômetro de absorção atômica foram utilizados padrões de referência rastreados ao NIST preparados volumetricamente.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS ESPÉCIES DE MICROALGAS

Os resultados qualitativos das espécies fitoplânctons presentes na lagoa facultativa aerada (LFA) e de maturação (LM) são expressos na Tabela 5, onde se observam os gêneros ou espécies identificadas, bem como os táxons a que estes pertencem. Foram identificados no estudo 27 táxons fitoplanctônicos, sendo que 11 espécies pertencem à divisão Chlorophyta.

**Tabela 5 – Espécies e gêneros presentes nas lagoas de estabilização**

Táxon	Gênero/Espécie	LFA	LM
Chlorophyta	<i>Monoraphidium sp.</i>	X	X
	<i>Closteriopsis sp.</i>	X	X
	<i>Tetraspora sp.</i>	X	X
	<i>Chlorella sp.</i>	X	X
	<i>Scenedesmus sp.</i>	X	X
	<i>Coelastrum sp.</i>	-	X
	<i>Selenastrum sp.</i>	X	X
	<i>Oocystis sp.</i>	X	-
	<i>Ankistrodesmus sp.</i>	X	X
	<i>Chlamydomonas sp.</i>	X	X
	<i>Chlorococcum sp.</i>	X	X
Bacillariophyta	<i>Navícula</i>	X	
	<i>Cyclotella sp.</i>	X	X
	<i>Diatomácea</i>	X	X
Cyanobacteria	<i>Synechocystis sp.</i>	X	X
	<i>Pseudanabaena sp.</i>	X	X
	<i>Planktolyngbya limnetica</i>	X	X
	<i>Gleocapsa sp.</i>	X	-
	<i>Synechococcus sp.</i>	X	X
	<i>Cilindrospermopsis sp.</i>	-	X
Euglenophyta	<i>Euglena sp.</i>	X	X
	<i>Phacus sp.</i>	X	X
	<i>Astasia sp.</i>	X	-
Ochrophyta	<i>Centritractus sp.</i>	X	X
Cryptophyta	<i>Chroomonas sp.</i>	X	-
	<i>Cryptomonas sp.</i>	X	-
Charophyta	<i>Closterium sp.</i>	X	X

Fonte: Autoria própria, (2017)

Segundo Hu et al. (2008), as microalgas que pertencem aos grupos *Bacillariophyceae* produzem ácidos graxos de C16: 0 e C16: 1; as *Chlorophyceae*,

ácidos graxos de C16: 0 e C18: 1; nas *Euglenophyceae*, C16: 0, C16: 1 e C18: 1; nas C16: 0, C16: 1 e C18: 1 em cianobactérias. Além desses ácidos graxos, as *Bacillariophyceae* são produtores de ácidos graxos poli-insaturados ( $\omega_3$  ou  $\omega_6$ , onde  $\omega_x$  identifica a posição aonde se encontra a primeira instauração); as *Bacillariophyceae* são produtoras de ácidos graxos poli-insaturados C20:5  $\omega_3$  e C22:6  $\omega_3$ ; em *Euglenophyceae* C18:2 e C18:3 $\omega_3$  e em *Cyanobacteria* C18:2 e C18:3  $\omega_3$ .

A análise quantitativa identificou na LFA as seguintes espécies predominantes: *Monoraphidium* sp. (3%), *Synechocystis* sp. (43%), *Closteriopsis* sp. (3%), *Chlorella* sp. (36%) e *Synechococcus* sp (8%). Para a LM, as espécies que predominaram foram: *Monoraphidium* sp. (4%), *Synechocystis* sp. (43%), *Tetraspora* sp. (4%), *Chlorella* sp. (32%) e *Synechococcus* sp (10%). Entretanto, vale salientar que outras espécies foram encontradas na LFA e LM em menor proporção. Essa variedade de espécies pode ser explicada em virtude de as lagoas de estabilização serem ambientes naturais e não terem um controle efetivo das variáveis ambientais que afetam o crescimento das microalgas. Dentre estes fatores podemos destacar: temperatura, radiação solar, disponibilidade orgânica e nutricionais no meio de cultivo, aeração e pH (QUEIROZ, 2014).

De acordo com a literatura, as espécies *Synechocystis* sp., *Chlorella* sp. e *Synechococcus* sp, que mais predominaram na lagoa, apresentam um grande potencial de acúmulo de lipídeos em suas células. Os estudos mostram que o material lipídico extraído dessas espécies em cultivos controlados apresentam predominância de ácidos graxos saturados e poli-insaturados (KARATAY; DONMEZ, 2011; KAIWAN-ARPORN, 2012; MORIOKA, 2014).

Diante das espécies predominantes identificadas na ETE de Ponta Negra/RN, espera-se que o material lipídico extraído dessas microalgas demonstre cadeias constituídas por ácidos graxos saturados e poli-insaturados, que poderão ser utilizados como matéria prima na produção de biodiesel.

## 5.2 RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES

Os resultados dos rendimentos das extrações do material lipídico das biomassas (Tabela 6) mostraram que as amostras LFA, LM, LFA-PAC, LFA-CF foram muito semelhantes. Esse fato já era de se esperar, há vista que, o quantitativo de espécies de microalgas potencialmente produtoras de óleo nessas amostras foram

também semelhantes. Entretanto, as amostras LM-PAC e LM-CF que deveria ter os mesmos rendimentos não apresentou. Tal fato, pode ser explicado devido, a biomassa algal da lagoa de estabilização ser heterogênea e não passar por nenhum tipo de pré-tratamento para a retirada das possíveis impurezas que podem conter na biomassa. Além disso, a temperatura submetida ao longo do processo de secagem da amostra pode ter degradado a biomassa. Portanto, diante desses fatos, os resultados dos rendimentos de todas as amostras podem ter sido comprometidas.

**Tabela 6 – Material lipídico extraído das microalgas**

<b>Amostras</b>	<b>Material lipídico extraído (%)</b>
LFA	4,50 ± 0,37
LFA- PAC	5,18 ± 0,06
LFA - CF	4,10 ± 0,51
LM	4,53 ± 0,46
LM - PAC	1,33 ± 0,10
LM - CF	3,36 ± 0,14

Fonte: Autoria própria (2017).

Além da extração do material lipídico, também foram feitas análises de absorção atômica na biomassa aonde permitiu inferir que a biomassa antes da extração possui teores altos de ferro (Fe) e alumínio (Al) totais. Os resultados também revelam que houve uma diminuição da concentração de ferro e alumínio totais na biomassa residual gerada após a extração do material. Esse comportamento, provavelmente, seja devido às perdas inerentes ao processo de extração. Vale salientar que possivelmente esses valores residuais não estão em quantidades significativas no óleo extraído, já que os resultados da TGA demonstram um percentual de resíduo baixo nos eventos térmicos dos extratos. Entretanto, não foi possível realizar as análises de metais pesados no óleo extraído das amostras da biomassa, pois o baixo volume obtido ao longo dos experimentos impossibilitava as análises através do equipamento de absorção atômica disponível.

### 5.3 ANÁLISE DO MATERIAL LIPÍDICO POR ESPECTROSCOPIA DO INFRAVERMELHO

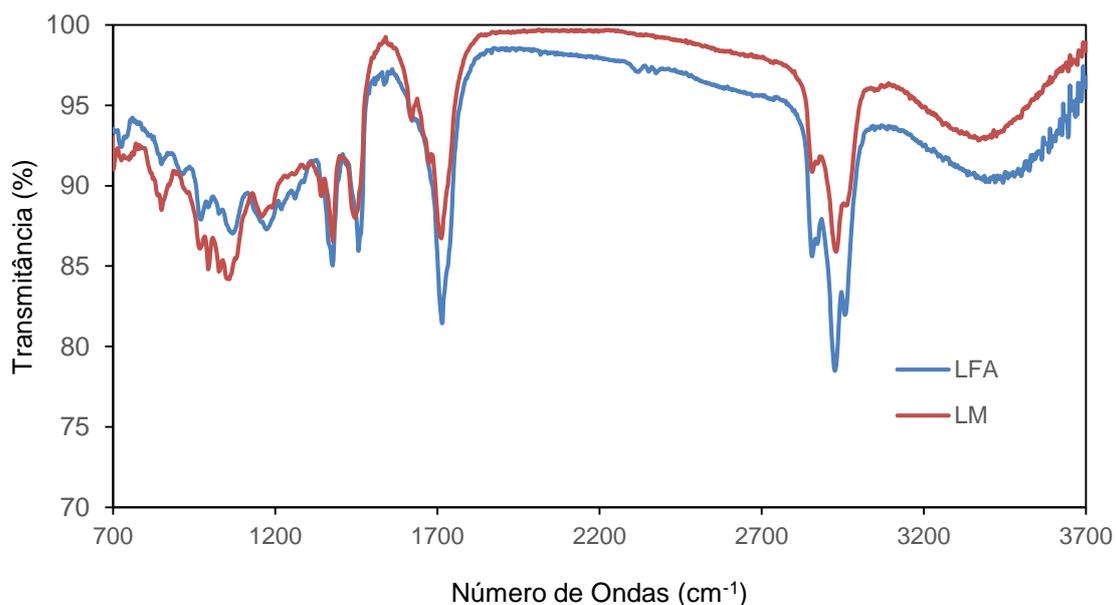
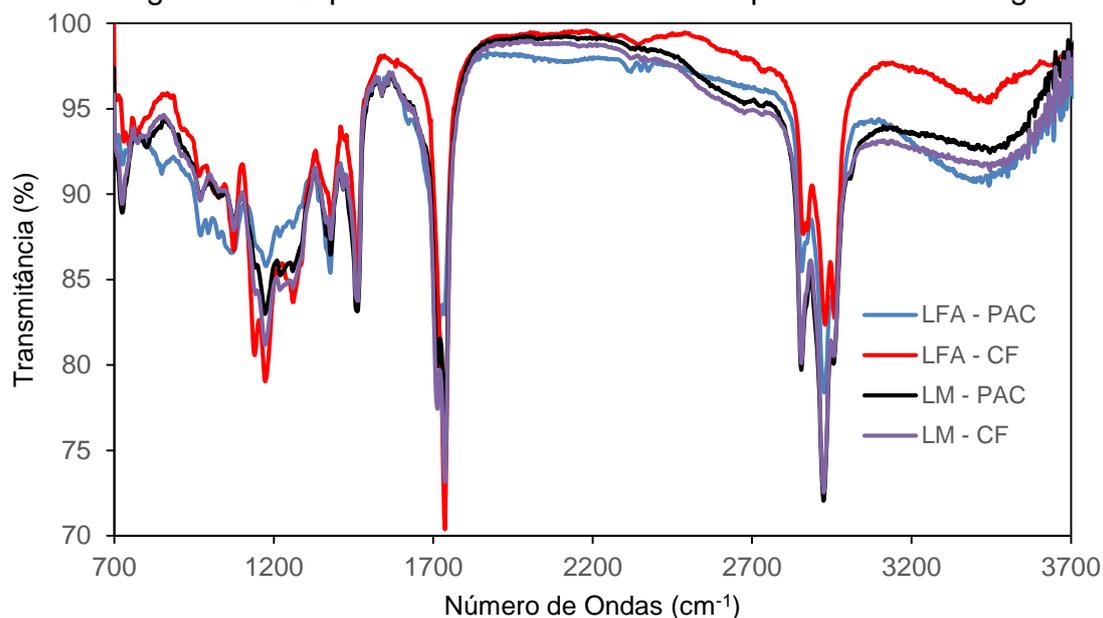
Os resultados do infravermelho por transformada de Fourier (Figura 17) indicaram que as amostras com aplicação de coagulantes apresentaram espectros com bandas de absorção relacionadas à presença de grupamento alceno em 2854 e

2926  $\text{cm}^{-1}$ , que correspondem ao estiramento dos grupos CH. Os espectros detectaram também duas bandas médias referentes à deformação axial do grupamento éster (C-O) em 1172 e 1259  $\text{cm}^{-1}$ , bem como a presença de uma banda atribuída ao grupo  $(\text{CH}_2)_n$ , a qual pode ser observada em 725  $\text{cm}^{-1}$ . As vibrações de estiramento da ligação referente à carbonila (C=O) de ésteres, que ocorrem entre 1750 e 1730  $\text{cm}^{-1}$ , também foram observadas com picos bastantes acentuados, confirmando a presença de triglicerídeos nas amostras lipídicas. Outra característica importante nos espectros foi a presença de bandas intensas na região de 3437  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas à deformação axial dos grupamentos OH, que pode estar ligada, provavelmente, à umidade nas amostras.

Portanto, a presença de éster nas amostras é fundamental para se confirmar a possível potencialidade da biomassa como produtora de óleo, que pode ser transformado em biodiesel através da reação de transesterificação (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000). Em relação às amostras que não utilizaram coagulantes (centrifugação), observou-se a ocorrência de deformação axial referente ao estiramento (C=O) característico de ácidos carboxílicos em 1714  $\text{cm}^{-1}$  e não de éster, mas que pode favorecer a produção de biodiesel através da reação de esterificação.

Yang et al. (2005), ao analisar alguns tipos de óleos tradicionalmente ricos em triglicerídeos, constataram que a maioria das bandas de absorção na região do infravermelho dos grupos funcionais dos triglicerídeos foram observadas em torno de 2937  $\text{cm}^{-1}$  (deformação axial assimétrica de C-H), 2856  $\text{cm}^{-1}$  (deformação axial simétrico C-H), 1749  $\text{cm}^{-1}$  (deformação axial do grupo C=O), 1454  $\text{cm}^{-1}$  (deformação angular tipo “scissoring” de C-H), 1166  $\text{cm}^{-1}$  (deformação angular de C-O e C-H) e 709  $\text{cm}^{-1}$  (deformação angular tipo “rocking” de  $(-\text{CH}_2-)_n$ ). Dessa forma, os resultados encontrados nas amostras supracitados evidenciam picos de absorção que caracterizam grupos funcionais de éster.

Figura 17 – Espectros de FTIR do material lipídico das microalgas



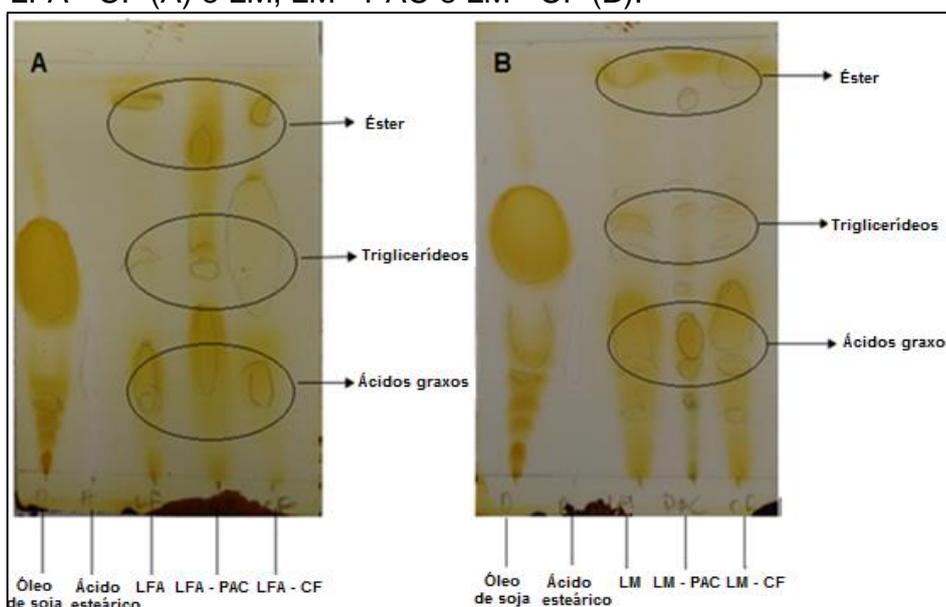
Fonte: Autoria própria (2017).

#### 5.4 ANÁLISE DO MATERIAL LIPÍDICO POR CROMATOLOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A cromatografia em camada delgada possibilitou a caracterização dos principais constituintes presentes no óleo das microalgas, sendo este analisado pelo fator de polaridade, onde se pode verificar a presença de cada constituinte em função da distância percorrida pelo eluente na placa (Figura 18). A partir da análise

comparativa dos padrões aplicados como referência na placa cromatográfica, foi possível observar um perfil lipídico desejável, pois em seus constituintes se fizeram presentes os ésteres, triglicerídeos e ácidos graxos.

Figura 18 – Placas cromatográficas do material lipídico da LFA, LFA - PAC, LFA - CF (A) e LM, LM - PAC e LM - CF (B).



Fonte: Autoria própria (2017).

A Tabela 7 mostra os valores calculados dos fatores de retenção (Rfs) dos extratos das biomassas e dos padrões utilizados. Vale salientar que os valores de Rfs das amostras também ficaram bem próximos aos obtidos na literatura (BRUM; ARRUDA; REGITAND-D'ARCE, 2009; FROEHNER; LEITHOLD; LIMA JUNIOR, 2007).

**Tabela 7 – Fator de retenção obtido do material lipídico extraído da biomassa**

Compostos	LFA	LFA- PAC	LFA - CF	LM	LM - PAC	LM - CF	Padrões
Éster	0,91	0,85	0,94	0,96	0,83	0,96	-
	0,55	0,53	0,73	0,66	0,66	0,66	
Triglicerídeo	-	0,65	-	0,58	0,61	0,61	0,66
	-	-	-	0,50	0,50	0,53	
Ácido graxos	0,35	0,42	0,31	0,41	0,41	0,41	0,41

Fonte: Autoria própria (2017).

Portanto, verifica-se que os resultados obtidos através da CCD demonstraram qualitativamente a presença de ésteres, ácidos graxos e triglicerídeos nas amostras avaliadas, confirmando a presença de substâncias importantes para a produção de biodiesel.

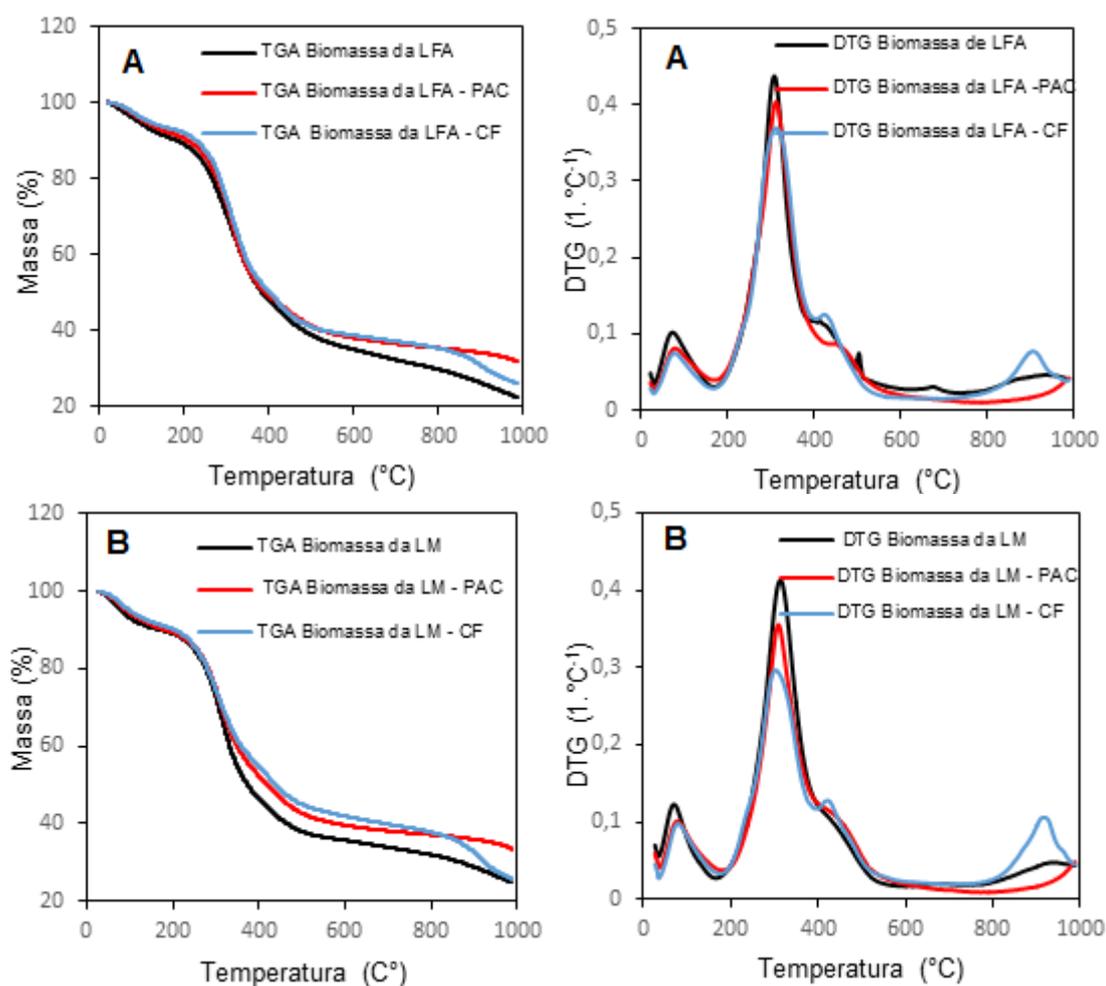
## 5.6 ANÁLISE POR TG/TGA DA BIOMASSA DA LAGOA FACULTATIVA AERADA E DA MATURAÇÃO

O comportamento térmico das biomassas microalgas da LFA, LFA-CF, LM e LM-CF apresentaram quatro eventos térmicos e a LFA-PAC e LM-PAC três eventos (Figura 19). O primeiro evento corresponde à desidratação da biomassa e o segundo evento à presença de carboidratos e proteínas. A presença de proteína na biomassa seca microalgal torna plausível a sua utilização também como alimento para ração animal na aquicultura (YAAKOB, et al., 2014). No entanto, torna-se necessário um estudo mais detalhado dessa biomassa. De acordo com Becker (2004), os pré-requisitos para que uma biomassa seja utilizada na alimentação animal estão descritos a seguir:

- Análise da composição química (proteína, carboidratos, gordura, fibras brutas, vitaminas e minerais e etc.);
- Análise do teor de substâncias biogênicas e não biogênicas tóxicas (ficotoxinas, ácidos nucleicos, metais pesados, pesticidas, outros agentes tóxicos e remoção de resíduos proveniente do processamento da biomassa);
- Estudo da qualidade nutricional bioquímico e proteico da biomassa (eficiência proteica, utilização da proteína líquida, valor biológico e coeficiente de digestibilidade);
- Valor suplementar da microalga com as fontes convencionais de alimentos;
- Análises de qualidade sanitária (contaminação microbiana);
- Avaliações de segurança (ensaios nutricionais de curta e longa duração com animais experimentais);
- Estudos clínicos (testes para segurança e adequabilidade do produto para consumo humano);
- Testes de aceitabilidade (essas avaliações são opcionais, tendo em vista que o consumidor irá decidir se o produto é aceitável ou não).

O terceiro evento está relacionado à decomposição da fração lipídica, principalmente os triacilglicerídeos, já o quarto evento só foi verificado nas amostras LFA, LFA-CF, LM e LM-CF, que provavelmente sejam pigmentos, como clorofila, que apresentam elevado peso molecular e encontram-se frequentemente como constituintes da microalga (GOMES et al.,2015).

Figura 19 – Curvas de TGA e DTG da biomassa seca da LFA, LFA - PAC e LFA - CF (A) e da LM, LM - PAC e LM - CF (B)



Fonte: Autoria própria (2017).

O alto percentual de material residual, principalmente na LFA-PAC e LM-PAC, pode estar relacionado à presença de metais (ferro e alumínio) provenientes do meio de cultivo e do coagulante utilizado no processo de flotação. Esse resultado corrobora com os resultados da absorção atômica obtido da biomassa, onde o LFA-PAC e LM-PAC foram os que obtiveram a maior quantidade de metais totais. Na Tabela 8 são

mostrados os resultados dos principais eventos térmicos da biomassa e suas respectivas porcentagens de perda de massa.

**Tabela 8 – Eventos térmicos das amostras das biomassas secas**

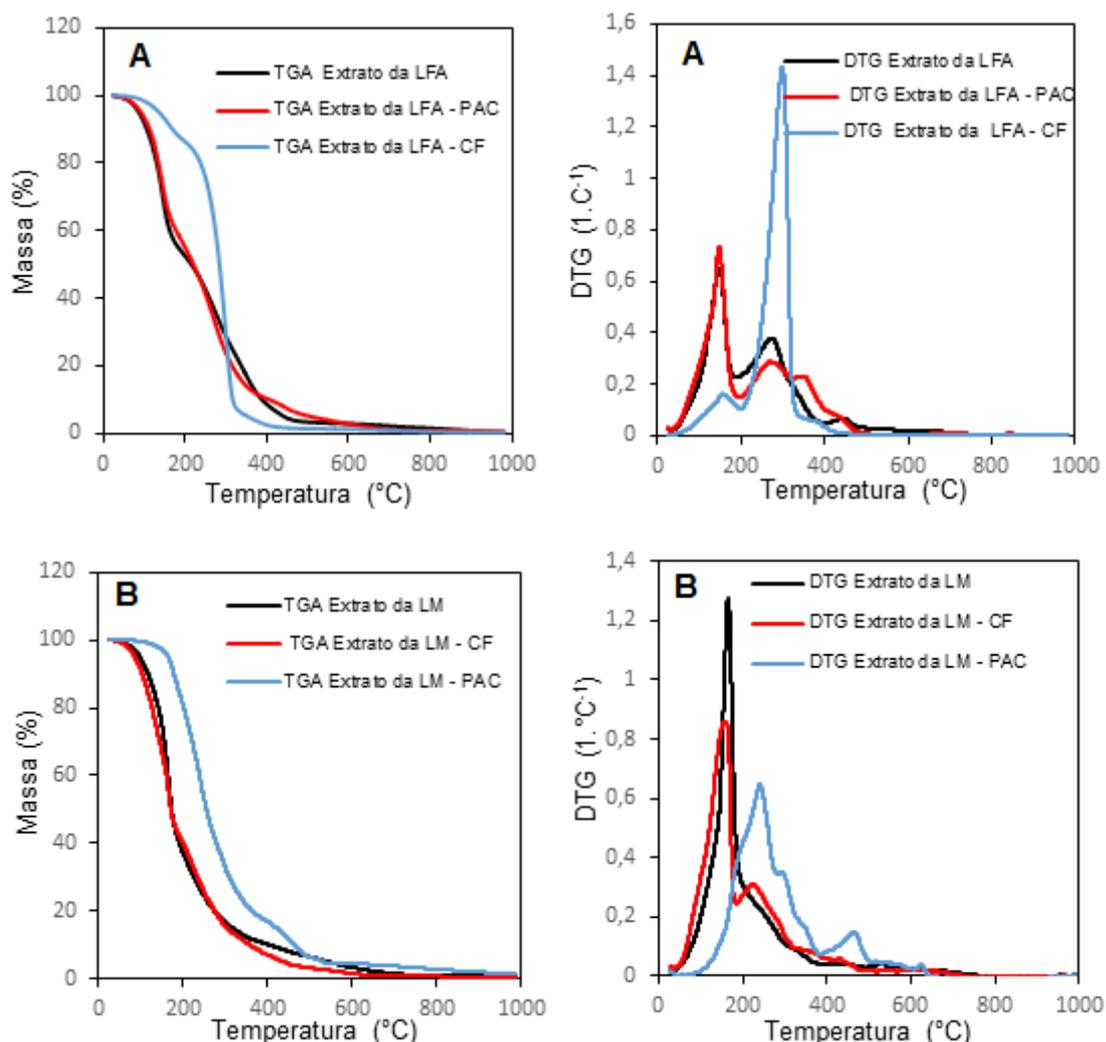
<b>Amostras</b>	<b>Eventos térmicos</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Massa (%)</b>
LFA	1°	27 - 174	9,59
	2°	174 - 396	41,75
	3°	396 - 559	13,32
	4°	559 - 988	13,23
Resíduos (%)	22,11		
LFA - CF	1°	28 - 170	6,99
	2°	170 - 395	43,34
	3°	395 - 596	12,16
	4°	596 - 988	11,70
Resíduos (%)	25,91		
LFA -PAC	1°	24 - 184	8,44
	2°	184 - 400	45,58
	3°	400 - 600	11,27
Resíduos (%)	34,71		
LM	1°	30 - 171	9,83
	2°	171 - 400	43,86
	3°	400 - 569	10,25
	4°	569 - 988	11,28
Resíduos (%)	24,78		
LM - CF	1°	24 - 175	8,91
	2°	175 - 386	35,77
	3°	386 - 560	14,94
	4°	560 - 988	14,91
Resíduos (%)	25,47		
LM - PAC	1°	35 - 185	10,04
	2°	185 - 399	38,26
	3°	399 - 621	12,91
Resíduos (%)	38,79		

Fonte: Autoria própria (2017).

## 5.7 ANÁLISE POR TG/TGA DO EXTRATO DA LAGOA FACULTATIVA AERADA E DE MATURAÇÃO

As curvas TG e DTG (Figura 20) dos extratos da biomassa da LFA, LFA-CF, LFA-PAC, LM, LM-CF e LM-PAC mostraram 3 etapas de perda de massa. O primeiro evento térmico de perda de massa consiste na volatilização do solvente (n-hexano) e vaporização de moléculas de água (GOMES et al.,2015).

Figura 20 – Curvas de TGA e DTG do extrato das biomássas da LFA, LFA - PAC e LFA - CF (A) e da LM, LM - PAC e LM - CF (B).



Fonte: Autoria própria (2017).

Os eventos térmicos 2° e 3° estão relacionados à decomposição ou volatilização dos triacilglicerídeos (MARCILLA et al., 2009). Dentre as amostras analisadas, a que teve maior perda de massa referente a esses eventos foi a LFA – CF, com aproximadamente 84,28% em comparação com as demais. Os picos que caracterizam as temperaturas máxima de degradação das amostras (Tabela 9), possivelmente, estão relacionados à volatilização dos produtos provenientes da decomposição dos triacilglicerídeos (produto de pirólise), ou eventuais TAG de elevada massa molecular. Os resíduos gerados podem ser atribuídos ao material que não volatiliza e é carbonizado. Na Tabela 9 são mostrados os resultados dos intervalos de temperatura dos principais eventos térmicos dos extratos e suas respectivas porcentagens de perda de massa.

**Tabela 9 – Eventos térmicos das amostras dos extratos das biomassas secas**

<b>Amostras</b>	<b>Eventos térmicos</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Massa (%)</b>	<b>Temperatura máxima de degradação (°C)</b>
LFA	1°	30 - 182	40,90	389
	2°	182 - 382	47,63	
	3°	382 - 485	5,57	
	Resíduos (%)	5,09		
LFA - CF	1°	30 - 202	13,88	453
	2°	202 - 330	79,28	
	3°	330 - 432	5,00	
	Resíduos (%)	1,84		
LFA -PAC	1°	30-190	45,87	447
	2°	190 - 320	30,09	
	3°	320 – 483	20,28	
	Resíduos (%)	3,76		
LM	1°	37 - 203	62,63	354
	2°	203 - 305	20,26	
	3°	305 - 379	5,23	
	Resíduos (%)	11,88		
LM - CF	1°	41 - 187	56,14	384
	2°	187 - 321	30,32	
	3°	321 - 475	9,64	
	Resíduos (%)	3,09		
LM - PAC	1°	59 - 284	61,50	458
	2°	284 - 385	20,37	
	3°	385 - 498	11,58	
	Resíduos (%)	6,55		

Fonte: Autoria própria (2017).

## 6 CONCLUSÕES

- Os resultados das análises microscópicas qualitativas do efluente da lagoa facultativa aerada e de maturação da ETE Ponta Negra/RN revelaram a presença dos seguintes grupos de espécies: Bacillariophyta, Cyanobacteria, Chlorophyta, Euglenophyta e Ochrophyta. As análises quantitativas das espécies que predominaram nas lagoas foram: *Synechococcus sp.*(10%), *Synechocystis sp.*(43%) e *Chlorella sp.*(36%), que de acordo com a literatura são ótimas produtoras de ácidos graxos saturados e poli-insaturados.
- O rendimento médio do teor de material lipídico extraído das biomassas algas foi 3,83%.
- As análises de absorção atômica evidenciaram que os coagulantes utilizados no processo de flotação provocaram um aumento significativo da concentração de ferro e alumínio totais na biomassa seca e residual, em relação ao outro processo que não utilizou coagulantes, limitando a sua reutilização em aplicações futuras.
- A análise da espectroscopia de infravermelho (FTIR) detectou bandas de absorção de éster na maioria dos extratos obtidos das microalgas. Portanto, evidenciando de forma qualitativa, a presença de lipídeos nas amostras.
- A análise cromatografia em camada delgada detectou a presença de éster, ácidos graxos e triglicerídeos nos extratos dos materiais lipídicos obtidos da biomassa da lagoa facultativa aerada e de maturação. Dessa forma, esse resultado confirma de forma qualitativa a presença de importantes substâncias que servem para serem utilizadas na produção de biodiesel.
- A análise termogravimétrica da biomassa desidratada evidenciou a presença de carboidrato, proteínas e lipídeos que podem ser utilizadas em diferentes tipos de aplicabilidades. Já em relação ao extrato do material lipídico obtido da biomassa mostrou a presença de triacilglicerídeos. Dessa forma, o extrato obtido das microalgas identificadas na lagoa de estabilização tem o potencial de produzir um óleo rico em triacilglicerídeos que pode ser reutilizado na produção de biodiesel por meio da reação de transesterificação.
- A análise de TG evidenciaram também que o óleo extraído da biomassa algal, possivelmente, não foi contaminado pelos coagulantes, Dessa maneira, esse material lipídico não comprometeria a qualidade do biodiesel, caso seja utilizado

para esse fim. Mas, que outros testes complementares devem ser feitos para que se tenha uma maior confiabilidade dos resultados.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, A. L.; MAT YASIN, N.H.M.; DEREK, C.J.C.; LIM J.K. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 584 – 593, 2011.
- AMARO, H.M.; GUEDES, A.C.; MALCATA, X. F. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. **Applied Energy**, v. 88, p. 3402–3410, 2011.
- ANDRADE NETO, C. O. **Sistema simples para tratamento de esgoto sanitários: experiência brasileira**. Rio de Janeiro: ABES, 1997.
- AQUINO, E.P.; LACERDA, S.R.; FREITAS, A.I.G. Cianobactérias das lagoas de tratamento de esgoto no semi-árido nordestino (Ceará, Brasil). **Revista de Botânica - Journal of Botany**, n.39, p.34 – 46, 2010.
- ARAUJO, G.M.; NETO, L.E.I.; ARAUJO, A.L.C.; SILVA, M.E.R. Avaliação experimental e modelagem matemática de filtros anaeróbios como alternativa de baixo custo para remoção de algas de efluentes de lagoas de estabilização. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.21, p. 687– 696, 2016.
- ATKINS, P.; JONES, L. **Princípio de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. Porto Alegre: Bookman, 2001. 873p.
- BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A.(Ed.). **Handbook of microalgal cultures biotechnology and applied phycology**, 2004.p.312 – 351.
- BLIGH, E. G; DYER, W. J.; A rapid method of total lipid extraction and purification. **Journal do Biochemistry and Physiology**, p.37, 911, Canadian, 1959.
- BRASIL. Balanço Energético Nacional - 2016. Relatório Síntese. Ano base 2015. Rio de Janeiro. Empresa de Pesquisa Energética – EPE, p.292. 2016.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae – A review of a Technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.14, p.557 – 577, 2010.
- BRENTNER, L. B.; ECKELMAN, M. J.; ZIMMERMAN, J. B. Combinatorial life cycle assessment to inform process design of industrial production of algal biodiesel. **Environmental science & technology**, v. 45, p. 7060 – 7067, 2011.
- BRITO, C. A. **Flotação por ar dissolvido como pós-tratamento de efluentes de lagoas de estabilização**. 2016. 53f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.
- BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F.; REGITANO-D´ARCE, M. A. B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p.849 – 854, 2009.

- CARDOSO, A.S.; VIEIRA, G.E.G.; MARQUES, A.K. O uso de microalgas para a obtenção de biocombustíveis. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 4, p. 542–549, 2011.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v.25, n.3 p. 294 – 306, 2007.
- COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 1997.
- DENARI, G.B. CAVALHEIRO, E.T.G. **Princípios e aplicações de análise térmica**. São Carlos: IQSC, 2012.
- DERNER, R.B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; SABRINA, C.M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência rural**, v.36, n.6, p.1959-1967, 2006.
- EL-KAYAR, A.; HUSSEIN, M.; ZATOUT, A. A.; HOSNY, Y. A.; AMER, A.A. Removal of oil from stable oil-water emulsion by induced air flotation technique. **Sep. Technol**, v.3, n.1, p.25 – 31, 1993.
- FARMACOPEIA Brasileira. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010. p.546.
- FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY G.H.S.; A simple method for isolation and purification of total lipids. **Journal of Biological Chemistry**, 497, 1957.
- FRANCO, A. L. C.; LÔBO, I. P.; CRUZ, R.S.; TEIXEIRA, C.M.L.L.; ALMEIDA NETO, J. A.; MENEZES, R.S. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. **Química Nova**, São Paulo, v.36, n.3, p.437 – 448, 2013.
- FROEHNER, S.; LEITHOLD, J.; LIMA JUNIOR, L., F. Transesterificação de óleos vegetais: caracterização por cromatografia em camada delgada e densidade. **Química Nova**, v. 30, n.8, p. 2016–2019, 2007.
- FUKUDA H.; KONDO A.; NODA H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **J Biosci Bioeng**, v.92, p.405 –16, 2001.
- FURTADO, A.L.F.F.; CALIJURI, M.C.; LORENZI, A.S.; HONDA, R.Y.; GENUÁRIO,D.B.; FIORE, M.F. Morphological and molecular characterization of cyanobacteria from a Brazilian facultative wastewater stabilization pond and evaluation of microcystin production. **Hydrobiologia** v. 627, p.195–209, 2009.
- GOMES, A.F.; GOMES, M.P.S.; SOUZA, L.D.; COSTA, M. Thermal and chromatographic characterization of biomass, lipid material, and microalgal biodiesel from *Monoraphidium* sp. **J Therm Anal Calorim March**, v.119, n.3, p.1861–1866, 2015.
- GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A.C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **J Ind Microbiol Biotechnol**, v.36, p.269–274,2009.

GREENWELL, H., C.; LAURENS, L.M.L.; SHIELDS, R.J.; LOVITT, R. W.; FLYNN, K.J. Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. **J. R. Soc. Interface**, v.7, p. 703 –726, 2010.

GRIMA, E, M.; BELARBI, E.-H.; FERNÁNDEZ, F.G.A.; MEDINA, A. R.; CHISTI, Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnology Advances**, v.20, p.491 – 515, 2003.

GRIMA, E.M.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F.G.; MELDINA ROBLES, A. Downstream Processing of Cell-Mass and Products. **Biotechnology and Applied Phycology** p.215-252, 2007.

GULDHE, A; SINGH, B.; RAWAT, I.; RAMLUCKAN, K.; BUX, F. Efficacy of drying and cell disruption techniques on lipid recovery from microalgae for biodiesel production. **FUEL**, v.128, p.46 – 52, 2014.

HALIM, R.; DANQUAH, M. K.; WEBLEY, P. A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnology Advances*, v. 30, n. 3, p. 709–732, 2012.

HELLER, L.; PÁDUA, V.L. **Abastecimento de água para consumo humano**. 2ª ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2010.

HITZFELD, B.C.; HOGER, S.J.; DIETRICH, D.R. Cyanobacterial Toxins: Removal during Drinking Water Treatment, and Human Risk Assessment. **Environmental Health Perspectives**, v.108, p.113–122, 2000.

HU, Q.; SOMMERFELD, M.; JARVIS, E.; GHIRARDI, M.; POSEWITZ, M.; SEIBERT, M.; DARZINS, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. **The Plant Journal**, v.54, p. 621– 639, 2008.

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

JORDÃO, E.P.; PESSÔA, C.A. **Tratamento de esgoto domésticos**. 6 ed. Rio de Janeiro: ABES, 2011.

KAIWAN-ARPORN, P.; HAI, P.D.; THU, N.T; ANNACHHATRE, A.P. Cultivation of cyanobacteria for extraction of lipids. **biomass and bioenergy**, v.44 p.142 – 149, 2012.

KARATAY, S.E.; DONMEZ, G. Microbial oil production from thermophile cyanobacteria for biodiesel production. **Applied Energy**, v. 88, p. 3632–3635, 2011.

KELLNER, E.; PIRES, E. C. **Lagoas de Estabilização: projeto e operação**. Rio de Janeiro: ABES, 1998.

KNUCKEY, R. M.; BROWN, M. R.; ROBERT, R.; FRAMPTON, D.M.F. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. **Aquacultural Engineering**, v.35, p.300 –313, 2006.

KRUG, F.J.; NÓBREGA, J.A.; OLIVEIRA, P.V. **Espectrometria de Absorção Atômica**. São Paulo: CENA/USP, 2014. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/baccan/files/2011/05/AAS-geral-parte-1-revisada.pdf>> Acesso em: 19/09/2017.

LAMAR, R. **Eutrofização**, 2012 Disponível em <<http://ramonlamar.blogspot.com.br/2012/03/eutrofizacao.html>>. Acesso em: 19 set. 2017.

LEE, J.Y; YOO, C; JUN, S.Y; AHN, C.Y; OH, H.M. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. **Bioresource Technology**, v.101, p. S75 – S77, 2010.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de Qualidade e Tratamento de Água**. 3. ed. Campinas: Editora Átomo, 2010.

LIRA, R. A. **Estudo do rendimento de biomassa da microalga nativa chlorella sp. Visando a obtenção de biocombustíveis**. 2011. 133f. (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, 2011.

LOPES, D. C.; MORAIS, I.; SILVA, L.P.; CARVALHO, L.P.; PACIELLO, M.O. Cultivo de microalgas para a produção de biodiesel: potencial a ser explorado. **Revista eletrônica energia**, v. 4, n. 1, p. 65 -74, 2014.

LUANGKIATTIKHUN, P.; TANGSATHITKULCHAI, C.; TANGSATHITKULCHAI. Non-isothermal thermogravimetric analysis of oil-palm solid wastes. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 5, p. 986–997, 2008.

MARA, D.D. **Domestic wastewater treatment in developing countries**. London: Earthscan, 2003.

MARA, D.D.et al. **Waste stabilization ponds: A design manual for Eastern Africa**. Lagoon Technology International. Leeds, 1992.

MARCILLA, A.; SIURANA, A.G.; CRISTIAN Gomis, C.; CHÁPULI, E.; CATALÁ, M.C.; FRANCISCO, J.; VALDÉS, F.J. Characterization of microalgal species through TGA/FTIR analysis: Application to *nannochloropsis* sp. **Thermochemica Acta**, v.484, p.41 – 47, 2009.

MASSI, L.; SOUSA, R.S.; LALUCE, C.; JAFELICCI JUNIOR, M. Fundamentos e aplicação da flotação como técnica de separação de misturas. **Química Nova na Escola**. n. 28, p.21–23, 2008.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N.S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.14, p.217–232, 2010.

MENDONÇA, S.R. **lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos**. João Pessoa: sindicato nacional dos editores de livros, 1990.

MERCER, P.; ARMENTA, R., E. Developments in oil extraction from microalgae. **J. Lipid Sci. Technol**, v.113, p.539–547, 2011.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. McGraw-Hill. 4. ed. 1848p, 2002.

MONTEGGIA, L. O. E.; TESSELE, F. Remoção físico-química de algas e fósforo de efluentes de lagoas de alta taxa In: CHERNICHARO, C. A. L. **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: PROSAB, 2001. p. 29 – 45.

MORENGO, J. A. **Mudanças climáticas globais e seus efeitos sobre a biodiversidade: caracterização do clima atual e definição das alterações climáticas para o território brasileiro ao longo do século XXI**. Brasília, DF: MMA, p.212, 2006.

MORIOKA, L.R.I.; MATOS, A.P.; OLIVO, G.; SANT'ANNA, E.S. Floculação de chlorella sp. produzida em concentrado de dessalinização e estudo de método de extração de lipídeos intracelulares. **Química Nova**, v.37, p.44–49, 2014.

MUTANDA, T.; RAMESH, D.; KARTHIKEYAN, S.; KUMARI, S.; ANANDRAJ, A.; BUX, F. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 57 – 70, 2011.

NUNES, D. G.; FRANÇA, S. C.; COUTO H. J. B. **Estudo da distribuição do tamanho de bolhas do processo de flotação por ar dissolvido para a recuperação de finos da indústria mineral**. Anais da XIV Jornada de Iniciação científica – CETEM, Rio de Janeiro, 2007.

NUVOLARI, A. **Esgoto sanitário: coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola**. 2ªed. São Paulo: Edgard Blucher, 2011.

OLIVEIRA, E. R A. **Observações sobre o fitoplâncton de lagoas de estabilização e avaliação de remoção algal via flotação com ar dissolvido**. 2013. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) Universidade do Ceará. 2013.

PALMER, C. M. Composite rating of algae tolerating organic pollution. **J. Phycol**, v. 1, n.5, p. 78–82, 1969.

PASTICH, E.A.; GAVAZZA, S.; CASÉ, M.C.C.; FLORENCIO, L.; KATO, M.T. Structure and dynamics of the phytoplankton community within a maturation pond in a semiarid region. **Braz. J. Biol.**,v. 76, n. 1, p. 144–153, 2016.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. 4. Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 546p.

PIMENTEL, D., A. **Tratamento de Efluente de Percolação Pluvial em Pilhas de Carvão Mineral**. 2007.132f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mineral) Universidade Federal de Ouro Preto - Escola de Minas, Ouro Preto - MG, 2007.

PONIS, E.; ROBERT, R.; PARISI, G. nutritional value of fresh and concentrated algal diets for larval and juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). **Aquaculture**, v.221, p.491–505, 2003.

QUEIROZ, M.A.F. **Emprego de biofiltro de pedra para remoção de Microalgas e sólidos suspensos de efluentes de Lagoas de estabilização**. 2014.68f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

SANTOS, N.A.C. **Desenvolvimento de um método analítico para determinação do teor de lipídeos em microalgas visando a produção de biodiesel**.2013.106f. Dissertação (Mestrado em Engenharia industrial) Universidade Federal da Bahia – Escola Politécnica, 2013.

SHOW, K.Y.; LEE, D.J.; CHANG, J.S. Algal biomass dehydration **Bioresource Technology** v.135 p. 720–729, 2013.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6.ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000. 460 p.

SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed..São Paulo: Cengage Learning, 2009.

SMITH, V. H.; SCHINDLER, D. W. Eutrophication science: where do we go from here? **Trends in Ecology and Evolution**, v.24, n.4, p.201–207, 2009.

TABATABAEI, M.; TOHIDFAR, M.; JOUZANI, G.S.; SAFARNEJAD, M.; PAZOUKI, M. Biodiesel production from genetically engineered microalgae: Future of bioenergy in Iran. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v.15, p.1918–1927, 2011.

THOMAS W., H.; TORNABENE, T., G.; WEISSMAN, J. Screening for lipid yielding microalgae: activities for 1983. **Solar energy research institute**, SERI/STR-231-2207, 1984.

UHELINGER, V. Étude statistique des méthodes de dénombrement planctonique. **Arch. Sci**, v.17, 121–223. 1964.

UTERMÖHL, H. Zur Vervollkomnung der quantitativen Phytoplankton Methodik. **Mitt.Int. Ver. Limnol**, v.9, p.1–38, 1958.

VEEKEN, A.; KALYUZHNYI, S.; SCHARFF, H.; HAMELERS, B. Effect of pH and VFA on hydrolysis of organic solid waste. **Journal of Environmental Engineering**, v. 126, n.12, p.1076–1081, 2000.

VIEIRA, G., E., G.; CARDOSO, A. S.; MARQUES, A.K.;PICKLER, A. Assessment of the potential of residuary microalgae from a stabilization pond for the production of biofuel. **WIT transactions on ecology and the environment**, v.167, p.187 – 197, 2011.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3ª. Edição. Belo Horizonte: DESA - UFMG, 2005.

VON SPERLING, M. **Lagoas de estabilização**, 2ª Edição ampliada. Belo Horizonte: DESA - UFMG, 2013.

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

YAAKOB, Z.; ALI, E.; ZAINAI, A.; MOHAMAD, M.; TAKRIFF, M.S. An overview: Biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture. **Journal of Biological Research-Thessaloniki**, v.21, n.6, p.1–10, 2014.

YANG, H.; IRUDAYARAJ, J.; PARADKAR, M. M. Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v.93, p.25 – 32, 2005.

## ANEXO A – Comprovante de submissão do artigo



**RG&SA** Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental

CAPA | SOBRE | ACESSO | CADASTRO | PESQUISA  
 ATUAL | ANTERIORES | NOTÍCIAS | PORTAL DE  
 PERIÓDICOS UNISUL | CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM  
 GESTÃO AMBIENTAL

Capa > v. 6, n. 2 (2017)

# Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental

**Ajuda do sistema**

**Usuário**

Login   
 Senha   
 Lembrar usuário

**Acesso**

**Conteúdo da revista**



RESUMO | AVALIAÇÃO | EDIÇÃO

### Submissão

Autores	Keville pereira oliveira, André luís calado araujo, Marta costa	
Título	EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE MICROALGAS DE LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO	
Documento original	 5101-12508-1-SM.DOCX	2017-07-20
Docs. sup.	Nenhum(a)	<a href="#">INCLUIR DOCUMENTO SUPLEMENTAR</a>
Submetido por	senhor keville pereira oliveira 	
Data de submissão	julho 20, 2017 - 09:58	
Seção	Artigos	
Editor	Nenhum(a) designado(a)	

### Situação

Situação	Aguardando designação
Iniciado	2017-07-20
Última alteração	2017-07-20

### Metadados da submissão

[EDITAR METADADOS](#)

Autores

**Autor**

Submissões

- Ativo (1)
- Arquivo (0)
- Nova submissão

**Conteúdo da revista**

Pesquisa

Escopo da Busca  
 Todos 

**Pesquisar**

Procurar

- Por Edição
- Por Autor
- Por título
- Outras revistas

**Tamanho de fonte**

