

EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS DE MICROALGAS PRESENTES EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PARA PRODUÇÃO DE BODIESEL

MOACYR GUSTAVO CALSAVARA TOMAZELLA

Orientadora: Catia Regina Silva de Carvalho Pinto

2011/1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E
AMBIENTAL

**EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS DE MICROALGAS PRESENTES
EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PARA PRODUÇÃO DE
BODIESEL**

Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina para Conclusão do Curso
de Graduação em Engenharia Sanitária e
Ambiental.

MOACYR GUSTAVO CALSAVARA TOMAZELLA

Orientadora:
Prof^ª. Catia Regina Silva de Carvalho Pinto

FLORIANÓPOLIS/SC
JULHO/2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E
AMBIENTAL

**EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS DE MICROALGAS PRESENTES
EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PARA PRODUÇÃO DE
BIODIESEL**

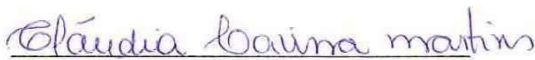
MOACYR GUSTAVO CALSAVARA TOMAZELLA

Trabalho submetido à Banca Examinadora como parte
dos requisitos para Conclusão do Curso de Graduação
em Engenharia Sanitária e Ambiental–TCC II

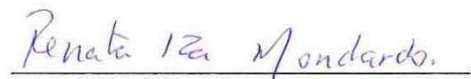
BANCA EXAMINADORA:



Prof.ª Dr.ª Catia Regina Silva de Carvalho Pinto
(Orientadora)



Dr.ª Cláudia Lavina Martins
(Membro da Banca)



Dr.ª Renata Iza Mondardo
(Membro da Banca)

FLORIANÓPOLIS/SC
JULHO/2011

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar sempre ao meu lado me guiando em tudo o que eu faço e em minhas escolhas.

Aos meus pais, Nivaldo e Angela, pelo amor e confiança que me passaram nesses cinco anos longe de casa e de suas companhias, sempre me apoiando em minhas decisões.

À minha irmã Nicole por me apoiar e sempre querer me ajudar.

A toda minha família pela força transmitida a mim.

À minha namorada Ingrid por estar ao meu lado sempre me incentivando.

À minha orientadora, Professora Catia, pela amizade e dedicação ao longo desses anos neste trabalho.

Ao Labtox pelo apoio e oportunidade em fazer parte da equipe.

Ao CNPq/PIBIC por me fornecer uma bolsa de iniciação científica durante um ano e fazer com que este trabalho fosse realizado.

À Cláudia pelo auxílio na manutenção das lagoas.

À Renata pelo auxílio no processo de extração dos lipídeos.

Ao Vitor pelo apoio laboratorial durante os ensaios realizados no LIMA.

À Grazieli por dar continuidade ao projeto como bolsista e me ajudar na conclusão deste trabalho.

À Carolina Viegas pela ajuda na escolha da metodologia de extração dos lipídeos.

A todos os professores que tive contato pelos conhecimentos compartilhados.

E a todos os meus amigos que colaboraram para o meu desenvolvimento acadêmico, pessoal e profissional.

RESUMO

O Brasil segue a tendência mundial de procurar alternativas viáveis de fontes energéticas que possam melhorar a qualidade e o suprimento seguro de energia, com sustentabilidade ambiental. A preocupação mundial com a escassez das fontes de energia para os diversos fins, aliada à ciência e tecnologia, fez crescer a demanda de combustíveis renováveis. Essas preocupações levaram algumas pesquisas a inovarem e, como alternativas, iniciou-se a utilização de microalgas para a extração de óleo para produção de biocombustíveis. Os estudos mostram que esses microrganismos possuem elevado rendimento para extração de óleo vegetal, tornando-se uma excelente alternativa. Isso se deve ao fato das microalgas possuírem elevada densidade de lipídeos, comparado com as oleaginosas soja, girassol, mamona etc. Neste trabalho está sendo proposto, como alternativa, o aproveitamento de um sistema de tratamento de lixo de aterro sanitário. Uma das etapas neste tipo de tratamento é o emprego de lagoas de estabilização, sendo que neste tipo de lagoa é freqüente uma densidade algal bastante elevada. Os organismos cultivados desta maneira permitem que o processo para produção de biodiesel de microalgas torne-se economicamente mais viável, pois não serão utilizados meios de cultura que comumente são extremamente caros, tornando o processo inviável. Portanto, deve-se considerar que a produção de biodiesel desta maneira, além de economicamente mais viável, ajuda a mitigar os custos e remediação ambiental dos efluentes. Este trabalho tem como objetivo principal verificar a viabilidade de utilizar microalgas oriundas de sistemas de lagoas de tratamento de lixo de aterro sanitário para a produção de biodiesel, a partir da extração de seus lipídeos. Para isso, as microalgas foram coletadas na superfície de uma das lagoas em dias com sol intenso através de uma peneira e foram centrifugadas para retirar o sobrenadante, composta basicamente de água. Após esta etapa, elas foram secas em uma estufa para retirar o restante da umidade. Foi realizada uma contagem das microalgas para determinar em que época do ano o cultivo de microalgas é maior e assim estimar a biomassa algal por m³ de lagoa. Em seguida, foi realizada a extração dos lipídeos da biomassa seca utilizando como solventes éter etílico através do Método de Soxhlet e a mistura clorofórmio/metanol pelo método Bligh & Dyer. Com apenas os lipídeos extraídos é possível ser feito biodiesel que será utilizado nos veículos movidos a diesel. O resultado foi analisado em cromatografia gasosa para saber o tipo e o percentual de lipídeos presentes nessas microalgas.

PALAVRAS-CHAVES: biodiesel, lixo, microalgas.

ABSTRACT

Brazil is following the world trend of seeking viable alternative energy sources that can improve the quality and secure supply of energy, with environmental sustainability. The global concern with the shortage of energy sources for various purposes, coupled with science and technology, has increased the demand for renewable fuels. These concerns have led some researchers to innovate, and started as alternatives to the use of microalgae for the extraction of oil for biofuel production. Studies show that these microorganisms have a high income for vegetable oil extraction, making it an excellent alternative. This is because of microalgae have a high density lipids, compared with soybean, sunflower, castorbean etc. This work is being proposed as an alternative, the use of a treatment system for landfill leachate. One step in this type of treatment is the use of stabilization ponds, and in this type of pond is often a very high algal density. The organisms cultured in this way allow the process to produce biodiesel from algae becomes more economically viable since it will not be used culture media that are often extremely expensive, making the process unworkable. Therefore, one should consider that the production of biodiesel in this way, and more economically viable, helps to mitigate the costs and environmental remediation of the effluent. This work has as main objective to verify the feasibility of using microalgae originating from lagoon systems treating leachate from landfill to produce biodiesel from the extraction of their lipids. For this, the microalgae were collected on the surface of one of the ponds on days with intense sunlight through a sieve and centrifuged to remove supernatant, composed mainly of water. After this stage, they were dried in an oven to remove the remaining moisture. We performed a count of microalgae to determine what time of year the cultivation of microalgae is higher and so estimate the algal biomass per m³ pond. Next, was performed a lipid extraction of biomass as solvents ethyl ether by the Soxhlet method and the mixture chloroform/methanol by the Bligh & Dyer method. With only the lipids extracted can be made biodiesel that will be used in diesel vehicles. The result was analyzed with gas chromatography to determine the type and content of lipids present in these microalgae.

KEYWORDS: biodiesel, leachate and microalgae.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
2. OBJETIVOS	25
2.1 Objetivos Específicos	25
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
3.1 Lixiviado de Aterro Sanitário	26
3.1.1 <i>Tratamento de Lixiviado</i>	27
3.2 Lagoas de Estabilização	28
3.2.1 <i>Condições Ambientais no Funcionamento de Lagoas de Estabilização</i>	29
3.2.2 <i>Lagoas Anaeróbias</i>	30
3.2.3 <i>Lagoas Facultativas</i>	31
3.2.4 <i>Lagoas de Maturação</i>	33
3.3 Produção de Biodiesel	34
3.3.2 <i>Biodiesel de Microalgas</i>	35
3.3.2.1 <i>Cultivo de microalgas</i>	36
3.3.2.1.1 <i>Chlamydomonas</i>	37
3.4 Extração de Lipídeos	38
4. METODOLOGIA	40
4.1. Origem e Características do Lixiviado	40
4.2. Unidade Experimental	42
4.2.1 <i>Localização</i>	42
4.2.2 <i>Descrição do Sistema de Tratamento de Lixiviado</i>	43
4.3 Processos de Coleta das Microalgas	45
4.4 Contagem das Microalgas	52
4.5 Processos de Extração de Lipídeos	52
4.5.1 <i>Extração com clorofórmio/metanol</i>	52
4.5.2 <i>Extração com éter etílico</i>	56
5. RESULTADOS	58

6. CONCLUSÕES	61
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Algas, energia luminosa e oxigênio em uma lagoa facultativa (seção transversal).....	32
Figura 2 - Exemplo de lagoa facultativa (onde a produção de algas é elevada.).....	33
Figura 3 - Reação de transesterificação de triglicerídeos.....	34
Figura 4 - Vista aérea do aterro sanitário de Biguaçu/SC.....	40
Figura 5 - Reservatório de fibra de vidro utilizado para armazenamento do lixiviado bruto.....	42
Figura 6 - Fluxograma do tratamento proposto.....	43
Figura 7- Vista geral do sistema de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro do Laboratório Experimental de Resíduos Sólidos da UFSC.....	44
Figura 8 - Microalgas presentes na superfície da lagoa de maturação. .	45
Figura 9 – Coleta das microalgas com a peneira.....	46
Figura 10 – Recipiente plástico para armazenamento das microalgas. .	46
Figura 11 – Centrífuga.....	47
Figura 12 - Tubos tipo Falcon.....	48
Figura 13 – Processo de preparo e secagem das microalgas na estufa. .	49
Figura 14 - Liquidificador usado para triturar a biomassa seca.....	50
Figura 15 - Biomassa seca após ser triturada.....	50
Figura 16 - Fluxograma do processo metodológico de coleta e extração de lipídeos de microalgas.....	51
Figura 17 - Câmara de Sedgewick-Rafter de 1 mL.....	52
Figura 18 - Microalgas secas pesadas em balança analítica de precisão.....	53
Figura 19 - Mistura das microalgas secas com clorofómio/metanol.....	54
Figura 20 - Incubadora de bancada refrigerada.....	54
Figura 21 - Filtro de vidro com placa porosa e bomba de vácuo.....	55
Figura 22 – Rotaevaporador.....	56
Figura 23 – Balão volumétrico antes e após a evaporação do solvente.....	56
Figura 24 - Soxhlet.....	57
Figura 25 - Processo de concentração do volume de microalgas.....	58
Figura 26 – <i>Chlamydomonas sp.</i> presentes na lagoa de maturação.....	58
Figura 27 - Análise de ácidos graxos realizada em cromatografia gasosa para perfil de ácidos graxos.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Percentual de lipídeos em algumas microalgas em relação à massa seca.	36
Tabela 2 - Principais características físicas e químicas do lixiviado do aterro sanitário de Biguaçu/SC.....	41
Tabela 3 - Síntese das características físicas e condições operacionais das lagoas do sistema de tratamento em escala piloto.....	44
Tabela 4 - Contagem das <i>Chlamydomonas</i> presentes na lagoa de maturação.....	59
Tabela 5 - Quantidade de lipídeos presentes em 100 gramas de microalga seca.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LABCAL - Laboratório de Análises do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos

LABTOX - Laboratório de Toxicologia Ambiental

LIMA - Laboratório Integrado de Meio Ambiente

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

1. INTRODUÇÃO

O Brasil segue a tendência mundial de procurar alternativas viáveis de fontes energéticas que possam melhorar a qualidade e o suprimento seguro de energia, com sustentabilidade ambiental. A preocupação mundial com a escassez das fontes de energia para os diversos fins, aliada à ciência e tecnologia, fez crescer a demanda de combustíveis renováveis. Neste contexto, o biodiesel promete revolucionar a matriz energética do País, por prover energia renovável, menos poluente e com produção garantida pelas condições climáticas, sendo, portanto ecologicamente mais correto.

Atualmente uma das maiores preocupações de toda a sociedade é a responsabilidade que cada um de nós possui sobre a preservação do meio ambiente. As atenções para este tema só tendem a crescer e, assim como tudo em nossos tempos atuais, de forma vertiginosa. Não há dúvida que o consumidor e os investidores estão cada vez mais atentos às empresas que se preocupam com questões de responsabilidade social e ambiental. Neste contexto, o Brasil apresenta grandes vantagens para produção de biocombustíveis, pois apresenta geografia favorável, situa-se em uma região tropical, com altas taxas de luminosidade e temperaturas médias anuais. Associada a disponibilidade hídrica e regularidade de chuvas, torna-se o país com maior potencial para produção de energia renovável.

Diante do exposto, não temos dúvidas que o Brasil apresenta diversas vantagens competitivas para desenvolver e implementar o biocombustível. Porém, cabe ressaltar duas preocupações: primeiramente, o aumento da produção de oleaginosas significa deslocar as atuais fronteiras agrícolas. A segunda preocupação, é que as colheitas tradicionais de oleaginosas não são a fonte mais produtiva ou mais eficiente de óleo vegetal.

Essas preocupações levaram algumas pesquisas a inovarem e, como alternativas iniciou-se a utilização de microalgas para a extração de lipídeos para a produção de biocombustíveis. Os estudos mostram que esses microrganismos possuem elevado rendimento para extração de óleo vegetal, tornando-se uma excelente alternativa. Isso se deve ao fato das microalgas possuírem elevada densidade de lipídeos, comparado com as oleaginosas, tais como: soja, girassol, mamona etc. Além disso, cabe ressaltar que a viabilidade econômica do biodiesel de algas não pode ser definida apenas em função da produtividade, existem outros elementos que agregam.

Neste trabalho está sendo proposto a utilização das microalgas presentes em um sistema de lagoas para tratamento de lixiviado de aterro sanitário, para produção de biodiesel, através do processo de extração de seus lipídeos utilizando os solventes clorofórmio/metanol e éter etílico. Sendo assim, utilizaremos o sistema de lagoas como nosso tanque de cultivo de microalgas. Os organismos cultivados desta maneira permitem que o processo para produção de biodiesel torne-se economicamente mais viável, pois não serão utilizados meios de cultura que comumente são extremamente caros, tornando o processo inviável. Portanto, deve-se considerar que a produção de biodiesel desta maneira, além de economicamente mais viável, ajuda a mitigar os custos e remediação ambiental dos efluentes. Além disso, este tipo de processo contribui para reduzir ou solucionar os impactos gerados pelos corpos hídricos eutrofizados.

O lixiviado de aterro sanitário contém grande quantidade de matéria orgânica biodegradável, mas também matérias pouco biodegradáveis, como os ácidos húmicos, metais pesados, compostos orgânicos voláteis e sais inorgânicos. Devido à presença de sólidos suspensos em concentrações elevadas, há uma tendência de emprego do tratamento físico-químico como etapa primária do tratamento antecedendo os processos biológicos e tendo ainda como objetivo produzir um efluente com melhor biodegradabilidade.

As lagoas de estabilização são a forma mais simples de tratamento de efluentes, utilizando-se diversas variantes dessas unidades com diferentes níveis de simplicidade operacional e requisitos de área, tendo como principal objetivo a remoção de matéria carbonácea. Suas vantagens em relação a outros tipos de tratamento têm sido destacadas como: alta remoção da carga orgânica, redução de coliformes fecais, além dos custos operacionais e de manutenção mínimos. No sistema proposto o lixiviado é direcionado a três lagoas em série.

Neste tipo de ambiente, predominam gêneros como *Chlorella* e *Chlamydomonas*. Alguns estudos mostram que estas microalgas apresentam uma importante concentração de lipídeos, em torno de 22 a 21%, respectivamente.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo principal verificar a viabilidade de utilizar microalgas oriundas de sistemas de lagoas de tratamento de lixiviado de aterro sanitário para a produção de biodiesel, a partir da extração de seus lipídeos.

2.1 Objetivos Específicos

- Estimar a biomassa algal por m^3 das lagoas durante o verão e inverno;
- Avaliar o processo de extração de lipídeos utilizando como solventes a mistura de clorofórmio/metanol e éter etílico;
- Avaliar a quantidade de lipídeos extraídos pelos dois solventes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Lixiviado de Aterro Sanitário

A interação entre o processo de biodegradação da fração orgânica dos resíduos e a infiltração de águas pluviais na massa de resíduos solubiliza componentes orgânicos e inorgânicos, gerando um líquido escuro, de composição variável, comumente denominado lixiviado. A idade do aterro sanitário e o grau de estabilização do material sólido disposto têm grande influência na composição do lixiviado, assim como as características do material aterrado, grau de compactação, quantidade de infiltração de água e regime de chuvas também podem ser responsáveis pela qualidade e quantidade do lixiviado que será produzido. (QASIN e CHIANG, 1994, *apud* CASTILHOS JUNIOR, 2006).

Segundo Rheman (2003), *apud* Fernandes (2009), os aterros sanitários podem acumular volumes importantes de líquidos percolados, apesar dos procedimentos operacionais utilizados tenderem a minimizar o fluxo destes efluentes. Define-se como lixiviado, os líquidos provenientes da umidade natural e da água de constituição presente na matéria orgânica dos resíduos, dos produtos da degradação biológica dos materiais orgânicos e da água de infiltração na camada de cobertura e interior das células de aterramento, somado a materiais dissolvidos ou suspensos extraídos da massa de resíduos.

A NBR 8419/1996 - Apresentação de projetos de aterros sanitários de resíduos sólidos urbanos define lixiviado como *“líquido produzido pela decomposição de substâncias contidas nos resíduos sólidos, que tem como características a cor escura, o mau cheiro e a elevada DBO5; constitui-se numa mistura de substâncias inorgânicas, compostos em solução e em estado coloidal e diversas espécies de microorganismos.”*

O lixiviado contém altas concentrações de nitrogênio amoniacal e que deste fato decorrem vários problemas. Os efluentes, com alta concentração de nitrogênio amoniacal, quando descartados em cursos d'água, sem tratamento prévio, podem estimular o crescimento de algas, a depleção do oxigênio dissolvido, além de serem tóxico à biota do ecossistema aquático. Quando em sistemas de tratamento biológico, as altas concentrações de nitrogênio amoniacal podem causar problemas de odores, além de serem tóxicas às bactérias decompositoras. Portanto, é necessário que seja feita sua coleta e tratamento. Dentre as tecnologias

existentes para este fim, destacam-se os vários tipos de tratamento biológico, principalmente devido a seu baixo custo e a facilidades operacionais. (CASTILHOS JUNIOR, 2006).

Comumente, utiliza-se aos líquidos originados em locais de disposição de resíduos sólidos, como aterros sanitários, as denominações de chorume, sumeiro, chumeiro, lixiviado e percolado (IPT/CEMPRE, 2000, *apud* FERNANDES, 2009).

Quanto à DBO₅, o lixiviado, normalmente apresenta valores na ordem de 3.000 a 19.000 mg/L (SA; KIRCHNER; LOCH, 1993, *apud* FERNANDES, 2009). Essa ampla faixa de valores ocorre uma vez que, no processo de degradação do lixo até a sua inertização, várias etapas estão concorrentes, ou seja, o lixo depositado anteriormente estará em fase de degradação mais adiantada do que o lixo depositado recentemente. Esse valor também é função da composição do resíduo, variando de acordo com sua heterogeneidade. Segundo Branco (1986) um efluente deve conter, como valor máximo, uma DBO₅ de 8mg/L para não afetar a comunidade aquática do corpo receptor.

3.1.1 Tratamento de Lixiviado

Devido ao seu potencial poluidor, os lixiviados devem ser tratados antes de serem lançados no meio ambiente, a fim de evitar maiores riscos de contaminação do solo e das águas subterrâneas e superficiais. Contudo, seu tratamento representa ainda um grande desafio na elaboração dos projetos de aterros sanitários, uma vez que suas características são muito diversas (FERREIRA; GIORDANO; RITTER, 2003).

As metodologias empregadas no tratamento de lixiviados podem ser biológicas e ou físicoquímicas. O tratamento biológico do lixiviado propicia e objetiva transformar os constituintes orgânicos em compostos estáveis, não putrescíveis, com remoção eficiente de DBO, DQO e nitrogênio amoniacal do líquido tratado. Desta forma, cabe à engenharia, fornecer condições ao meio, para que o fenômeno da biodegradação ocorra espontaneamente, através da ação de microrganismos (bactérias, protozoários, algas e fungos). Para o tratamento biológico atualmente, utilizam-se sistemas de lagoas de estabilização (anaeróbia, facultativa e de maturação), lagoas aeradas aeróbias de mistura completa, filtro biológico aeróbio (através de meio suporte) e reatores anaeróbio associados a membranas (CASTILHOS JUNIOR, 2006).

3.2 Lagoas de Estabilização

Os sistemas de lagoas de estabilização constituem-se na forma mais simples para o tratamento dos esgotos, sendo que existem diversas variantes dos sistemas de lagoas de estabilização, com diferentes níveis de simplicidade operacional e requisitos de área. Elas são bastante indicadas para as condições brasileiras, pela disponibilidade de área em um grande número de localidades, clima favorável (temperatura e insolação elevadas), operação simples e necessidade de pouco ou nenhum equipamento. (VON SPERLING, 1996)

Segundo Gotardo (2005) os processos bioquímicos e hidrodinâmicos, nas lagoas de estabilização, são influenciados por condições climatológicas como insolação, ventos, temperatura, precipitação e evaporação. A intensidade e duração da radiação solar apresentam-se como fatores primordiais no processo de fotossíntese, sendo significativamente favorecido em regiões de clima tropical e subtropical, como é o caso do Brasil. Pelo fato das lagoas serem um sistema natural, há a necessidade de disponibilidade de área territorial e clima favorável. Assim, tornam-se relevantes os estudos regionais sobre o comportamento do processo a fim de otimizarem o processo natural.

As lagoas de estabilização têm sido utilizadas para tratamento desses dejetos em diversos municípios brasileiros. Apesar de o Brasil ter disponibilidade de áreas, busca-se a otimização dos sistemas. Assim, procura-se desenvolver outros tipos de lagoas que utilizem menor área, em substituição a lagoa facultativa tradicional. As lagoas de alta taxa têm uma pequena profundidade (0,3 a 0,6 m), mistura constante da biomassa algal e tempo de retenção hidráulica (2 a 12 dias) necessitando menor área (OSWALD, 1988, PICOT *et al.*, 1992).

O uso de lagoa de alta taxa de produção de algas como forma de pós-tratamento se justifica, principalmente, por proporcionar eficiência de desinfecção elevada em lagoas operadas com tempo de detenção hidráulico reduzido, comparativamente a lagoas convencionais de tratamento. Contudo a grande desvantagem deste sistema reside no fato de uma grande biomassa de algas fitoplanctônicas se desenvolvem no efluente durante o tempo de detenção na lagoa. Masseret *et al.* (2000) constataram que efluentes de lagoas de estabilização causam significantes mudanças na estrutura fitoplanctônica de um corpo hídrico receptor devido a liberação de grande biomassa algal.

Projetadas para promover um controle ambiental através do tratamento dos despejos, a autodepuração/estabilização da matéria orgânica é realizada através da oxidação bacteriológica (oxidação

aeróbia ou fermentação anaeróbia) e/ou redução fotossintética das algas. Em nível metabólico, os organismos fotoautotróficos (algas e cianobactérias) transformam a matéria inorgânica em compostos orgânicos mais simples, com liberação do oxigênio, o qual fica disponível no meio, desempenhando importante função no processo de decomposição da matéria orgânica. Os organismos heterotróficos alimentam-se desta matéria orgânica e utilizam o oxigênio gerado para oxidação (ganho de energia) e liberação de energia necessária. Ao final deste processo ocorre a liberação de gás carbônico, amônia e fosfato, necessários a fotossíntese (VON SPERLING, 1996).

Um subproduto da respiração das bactérias heterotróficas, o dióxido de carbono, ao ser consumido pelas algas, modifica o equilíbrio tampão carbonato/bicarbonato e, em consequência da formação de íons hidróxidos (OH⁻), eleva o pH do líquido, o qual varia entre 8 e 11 (UEHARA; VIDAL, 1989). Tais condições favorecem a redução do número de bactérias patogênicas, a precipitação dos fosfatos de cálcio e a volatilização da amônia, o que caracteriza o processo de autodepuração dos efluentes. Assim, além da remoção da matéria carbonácea, do ponto de vista sanitário, as lagoas podem alcançar elevadíssimas eficiências de remoção de organismos patogênicos (VON SPERLING *et al.*, 2003). É um método natural simples e importante para o tratamento de efluentes, utilizada no tratamento de lixiviados em muitos aterros sanitários (HAMADA; MATSUNAGA, 2000).

3.2.1 Condições Ambientais no Funcionamento de Lagoas de Estabilização

Em um sistema de lagoas de estabilização, as principais condições ambientais que influenciam no desempenho do sistema são: a radiação solar, a temperatura e o vento. A radiação solar exerce influência na velocidade da fotossíntese; a temperatura exerce influência não só na velocidade de fotossíntese, como também na taxa de decomposição bacteriana, solubilidade, transferência de gases e nas condições de mistura; os ventos influenciam nas condições de mistura assim como na reaeração atmosférica (JORDÃO e PESSOA, 2005). Abaixo estão detalhadas as principais condições ambientais que influenciam no desempenho do sistema:

- **Radiação Solar**

A penetração da radiação solar na massa d'água tem fundamental importância na remoção de patogênicos e na produtividade algal. A

divisão da radiação em zonas é determinada pela atenuação da luminosidade, sendo esta realizada pelas substâncias húmicas e absorção algal, sendo o processo de dispersão (turbidez) de menor importância (CURTIS *et al.*, 1994). As algas impedem a penetração da luz no meio líquido, principalmente por possuírem grande quantidade de pigmentos (fotossintetizantes), perfazendo uma correlação entre a absorvância e as algas (como também clorofila *a*) aproximadamente linear. Em geral, todas as lagoas recebem maior incidência luminosa na superfície e menor no fundo sendo a faixa de variação localizada entre 10 e 30 cm de profundidade.

- **Temperatura**

A temperatura apresenta-se como um dos fatores de maior importância no funcionamento das lagoas de estabilização, uma vez que exerce influência tanto em processos bioquímicos e biológicos quanto em fatores hidrodinâmicos (estratificação). Desta forma, a temperatura age como um excelente guia de desempenho de um sistema, uma vez que a atividade dos microrganismos envolvidos na degradação do substrato é fortemente influenciada por este parâmetro, sendo significativa na faixa de 5 a 35°C. Para o crescimento algal, tem se observado que o valor é máximo na faixa de temperatura de 25 a 30°C. Temperaturas mais altas diminuem o crescimento, e temperaturas acima de 35°C causam a inibição total da atividade algal (CURTIS, 2005).

- **Ventos**

A ação dos ventos possibilita a homogeneização da massa líquida, levando o oxigênio da superfície às camadas mais profundas, auxiliando na mistura da lagoa. Através da ação dos ventos, os microrganismos se dispersam por toda a extensão da lagoa, servindo ainda para auxiliar na movimentação de algas desprovidas de mobilidade. Em alguns casos, onde a fotossíntese torna-se insuficiente para garantir a oxigenação da massa líquida, o vento pode contribuir para a transferência e difusão de oxigênio atmosférico para a massa líquida (MENDONÇA, 2000).

3.2.2 Lagoas Anaeróbias

As lagoas anaeróbias constituem-se em uma forma alternativa de tratamento, onde a existência de condições estritamente anaeróbias é essencial. Tal fato é alcançado através do lançamento de uma grande

carga de DBO por unidade de volume da lagoa, fazendo com que a taxa de consumo de oxigênio seja várias vezes superior à taxa de produção. No balanço de oxigênio, a produção pela fotossíntese e pela reaeração atmosféricas são, neste caso, desprezíveis. Elas tem sido utilizadas para o tratamento de esgotos domésticos e despejos industriais predominantemente orgânicos, com altos teores de DBO.

As lagoas anaeróbias são usualmente profundas, da ordem de 4 m a 5 m. A profundidade é importante, no sentido de reduzir a possibilidade da penetração do oxigênio produzido na superfície para as demais camadas. A temperatura do meio tem uma grande influência nas taxas de reprodução e estabilização, o eu faz com que locais de clima favorável (temperatura elevada), como no Brasil, se tornem propícios a este tipo de lagoas. Pelo fato das lagoas serem mais profundas, a área requerida é correspondente menor. A remoção de DBO na lagoa anaeróbia proporciona uma substancial economia de área, fazendo com que o requisito de área total (lagoa anaeróbia + facultativa) seja em torno de 2/3 do requisito de uma lagoa facultativa única. (VON SPERLING, 1996).

3.2.3 Lagoas Facultativas

Numa lagoa de estabilização facultativa, as algas desempenham um papel fundamental. A sua concentração é mais elevada do que a de bactérias, fazendo com que o líquido na superfície da lagoa seja predominantemente verde. Em termos de sólidos em suspensão secos, a concentração é usualmente inferior a 200 mg/l, embora em termos de números as algas possam atingir contagens na faixa de 10^4 a 10^6 organismos por 100 ml (ARCEIVALA, 1981, *apud* VON SPERLING, 1996).

Um dos principais tipos de algas encontrados nas lagoas de estabilização são as algas verdes (clorofíceas). Essas algas conferem à lagoa a cor esverdeada predominante, sendo que os principais gêneros são as *Chlamydomonas*, *Chlorella* e *Euglena*. Os dois primeiros gêneros são normalmente os primeiros a aparecer na lagoa, tendendo a ser dominantes nos períodos frios, e possuindo flagelos, o que lhes confere a capacidade de locomoção (JORDÃO E PESSOA, 1995).

As algas fazem a fotossíntese durante as horas do dia sujeitas à radiação luminosa. Neste período, elas produzem a matéria orgânica necessária para a sua sobrevivência, convertendo a energia luminosa em energia química condensada na forma de alimento. Durante as 24 horas do dia elas respiram, oxidando a matéria orgânica produzida, e liberando

a energia para crescimento, reprodução, locomoção e outros. O balanço entre produção (fotossíntese) e consumo (respiração) de oxigênio favorece amplamente o primeiro. De fato, as algas produzem cerca de 15 vezes mais oxigênio do que consomem (ABDEL-RAZIK, 1991, *apud* VON SPERLING, 1996), conduzindo a um saldo positivo no sistema.

Devido à necessidade de energia luminosa, a maior quantidade de algas situa-se próximo à superfície da lagoa, local de alta produção de oxigênio. Quanto mais ao fundo da lagoa, a energia luminosa diminui, reduzindo a concentração de algas. Na camada superficial, com menos de 50 cm, situa-se a faixa de maior intensidade luminosa, com o restante da lagoa praticamente escura. Há um ponto ao longo da profundidade da lagoa em que a produção de oxigênio pelas algas se iguala ao consumo de oxigênio pelas próprias algas e pelos microrganismos decompositores. Este ponto é denominado de oxipausa (Figura 1) (VON SPERLING, 1996).

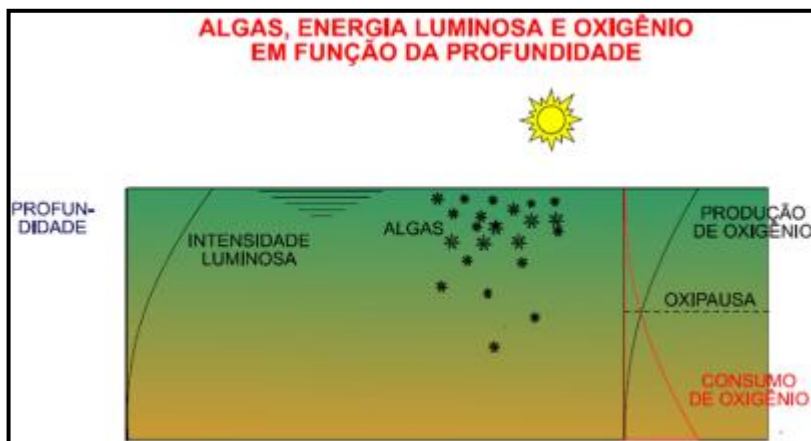


Figura 1 - Algas, energia luminosa e oxigênio em uma lagoa facultativa (seção transversal).

Fonte – VON SPERLING (1996).

Acima da oxipausa predominam condições aeróbias, enquanto abaixo desta prevalecem as condições anóxicas ou anaeróbias. O nível da oxipausa varia durante as 24 horas do dia, em função da variabilidade da fotossíntese durante este período. À noite, a oxipausa se eleva na lagoa, ao passo que durante o dia ela se aprofunda.

A profundidade da zona aeróbia, além de variar ao longo do dia, varia também com as condições de carga da lagoa. Lagoas com uma maior carga de DBO tendem a possuir uma maior camada anaeróbia, que pode ser praticamente total durante a noite. Nas lagoas facultativas (Figura 2) co-existem algas verdes (clorofíceas) e algas azuis (cianofíceas). (VON SPERLING, 1996).

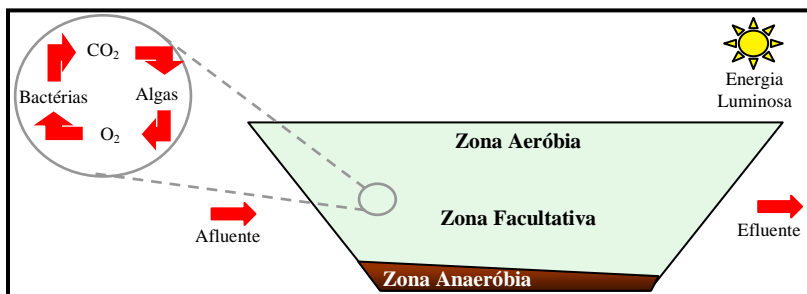


Figura 2 - Exemplo de lagoa facultativa (onde a produção de algas é elevada.)

Fonte – Adaptado de VON SPERLING (1996).

3.2.4 Lagoas de Maturação

As lagoas de maturação são usadas como refinamento do tratamento prévio após as lagoas facultativas, tendo como finalidade principal a remoção de organismos patogênicos, sólidos em suspensão e nutrientes, com o propósito de melhorar a qualidade do efluente. O nitrogênio pode ser removido através da volatilização da amônia e assimilação do nitrogênio orgânico pelas algas. O fósforo pode ser removido por precipitação na forma insolúvel quando o pH é maior ou igual a 9,0. Apresentam elevada população de algas que se reflete em elevadas concentrações de SS e DBO no efluente. Pode haver colonização por zooplâncton e peixes e, caso não seja efetuada correta manutenção do sistema, também a presença de plantas macrófitas. As lagoas de maturação são caracterizadas por possuírem uma pequena profundidade (0,8 a 1,5 m) e forte concentração em algas. O elemento chave desse tipo de lagoa é o oxigênio de origem exclusivamente fotossintética. (VON SPERLING, 1996; JORDÃO e PESSÔA, 2005).

3.3 Produção de Biodiesel

Embora o conceito sobre biodiesel esteja sob discussão, este termo pode ser empregado para descrever ésteres de ácidos graxos de cadeia longa (monoésteres alquílicos) derivados de fontes renováveis, tais como óleos vegetais e gorduras animais (Geris *et al*, 2007).

Segundo Knothe (2006) para que o biodiesel seja produzido, óleos vegetais e gorduras animais são submetidos a uma reação química denominada transesterificação. Nesta reação, óleos vegetais e gordura animal reagem na presença de um catalisador com um álcool para produzir os alquil ésteres correspondentes da mistura de ácidos graxos que é encontrada no óleo vegetal ou na gordura animal de origem. O esquema geral da reação de transesterificação pode ser visto na Figura 3.

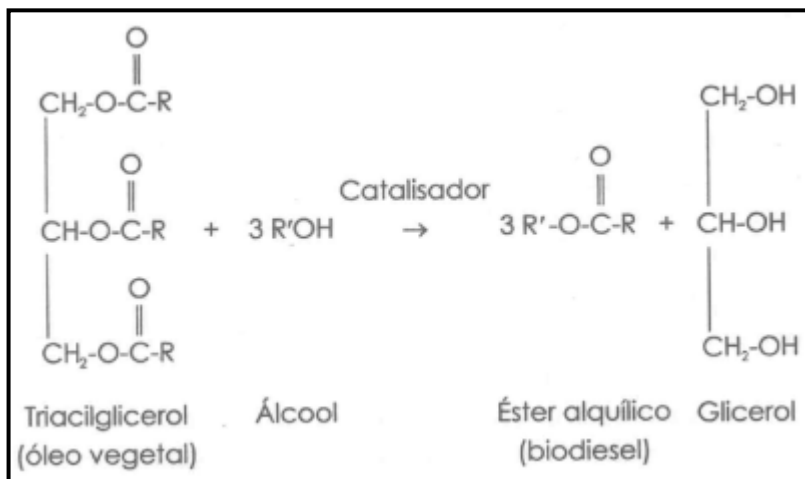


Figura 3 - Reação de transesterificação de triglicerídeos.

R é uma mistura de várias cadeias de ácidos graxos. R' é um álcool, geralmente etanol ou metanol.

Fonte – KNOTHE (2006).

De acordo com a Lei nº 11.097, de 13 de setembro de 2005, biodiesel é um “*biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil.*”

Já o Portal do Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel (www.biodiesel.gov.br) define o termo como um combustível biodegradável derivado de fontes renováveis, que pode ser obtido por diferentes processos tais como o craqueamento, a esterificação ou pela transesterificação, podendo ser produzido a partir de gorduras animais ou de óleos vegetais, tais como mamona, girassol, pinhão manso, soja, dentre outras.

Segundo Gerpen *et al* (2006) o biodiesel pode ser produzido de uma grande variedade de matérias-primas. Estas matérias-primas incluem a maioria dos óleos vegetais, como óleo de soja, algodão, palma, amendoim e girassol, gorduras de origem animal (sebo), bem como óleos de descarte. Além de ser totalmente compatível com o diesel de petróleo em praticamente todas as suas propriedades, o biodiesel ainda apresenta várias vantagens adicionais em comparação com este combustível fóssil.

3.3.2 Biodiesel de Microalgas

Para Huntley *et al* (2007) as microalgas são cultivadas principalmente para a finalidade de suplemento alimentar, uso em aquicultura e extração de produtos de alto valor comercial. Os cultivos em escala comercial para a finalidade de produção de biodiesel encontram-se em andamento; desta forma, não se tem informação precisa sobre custos para este empreendimento; todavia, todos os projetos até agora implantados apresentam altos custos de implantação e de produção da biomassa.

Segundo o Portal Biodieselbr.com (2010) o óleo extraído a partir das algas é visto como uma alternativa atrativa ao óleo de soja e outros óleos vegetais por não fazer uso de terras que poderiam ser usadas para culturas alimentícias e por absorver dióxido de carbono de usinas e indústrias.

Dentre as novas matérias-primas para obter de óleo vegetal destinado à produção do biodiesel, as microalgas aparecem entre fontes mais promissoras, devido ao seu rendimento em óleo ser muito mais alto do que o melhor rendimento obtido com as oleaginosas tradicionais e pelo fato de que elas podem crescer em outros lugares como terras não cultiváveis, minimizando assim os danos causados aos ecossistemas e à produção de alimentos (PÉREZ, 2007).

Na Tabela 1 é apresentado o percentual de lipídeos presentes em algumas espécies de microalgas, em relação à sua massa seca.

Tabela 1 - Percentual de lipídeos em algumas microalgas em relação à massa seca.

Microalgas	Lipídeos (%)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	14 - 22
<i>Euglena gracilis</i>	14 - 20
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	16 - 40
<i>Spirulina platensis</i>	04 - 09

Fonte – BECKER (1994), *apud* PÉREZ (2007).

3.3.2.1 Cultivo de microalgas

Segundo Teixeira e Morales (2006) o cultivo de microalgas apresenta várias características interessantes, como custos relativamente baixos para a colheita e transporte e menor gasto de água, comparados aos cultivos de outras plantas. Pode ser realizado em condições não adequadas para a produção de culturas convencionais. As microalgas apresentam maior eficiência fotossintética que os vegetais superiores, sendo cultivadas em meio salino simples e por serem eficientes fixadoras de CO₂.

Estes organismos podem ser cultivados em diversos sistemas de produção, com volume variando desde poucos litros até bilhões de litros. Os sistemas comumente empregados são pouco sofisticados, uma vez que muitas empresas desenvolvem cultivos a céu aberto, sob condições naturais de iluminação e temperatura, e com baixo ou nenhum controle destes parâmetros ambientais. Os tanques são geralmente rasos, construídos em concreto, fibra de vidro, policarbonato, com fundo de terra ou revestido com material plástico, sendo que as culturas são constantemente agitadas. (BOROWITZKA, 1999, *apud* DERNER, 2006).

Alguns cultivos têm sido desenvolvidos em equipamento específico, denominado fotobiorreator, visando a alcançar elevadíssima produtividade. Os cultivos são realizados em sistema fechado, em painéis de forma achatada ou em serpentinas, espirais ou cilindros, construídos com tubos de plástico, vidro ou policarbonato. Nos fotobiorreatores, é possível controlar as condições de cultivo (quantidade dos nutrientes, temperatura, iluminação, pH etc.). Isto implica uma elevada produtividade, viabilizando a produção comercial de uma série de compostos de elevado valor. (TREDICI, 2004. *apud* DERNER, 2006).

3.3.2.1.1 *Chlamydomonas*

Estes organismos são frequentes em lagoas de estabilização, servindo para caracterizar as fases ou condições de tratamento de acordo com suas exigências tróficas, suportando perfeitamente ambientes ricos em matéria orgânica em decomposição. (BEYRUTH, 1996, *apud* MARTINS, 2010).

Segundo Branco (1986), os gêneros flagelados como *Chlamydomonas*, são predominantes em condições de alta carga, apresentando grande tolerância à ambientes contaminados, uma vez que suportam ambientes ricos em matéria orgânica em decomposição ou altamente mineralizados por esta.

Poucas espécies de algas podem sobreviver em águas com elevadas concentrações de elementos nutritivos. A seleção natural é feita em benefício de algumas espécies resistentes que são geralmente encontradas em águas poluídas, de forma que o número de gêneros presentes em lagoas de estabilização torna-se limitado. Dentre as formas mais comumente encontradas e que se destacam por estarem relacionadas com a qualidade da água nas lagoas, estão as do Filo *Cyanobacteria*, *Chlorophyta*, *Euglenophyta*, *Cryptophyta* e *Bacillariophyta*. A descrição do filo *Chlorophyta* será detalhada, segundo Lee (1999) e Streble e Krauter (1985), *apud* Fernandes, 2009.

As algas do filo *Chlorophyta*, também conhecidas como algas verdes, são eucariontes fotoautotróficas, podendo ser encontradas em todos os níveis de organização, desde formas flageladas, cocais até espécies de estrutura talosa. Alguns organismos apresentam flagelos, em número variável, os quais permitem o movimento ativo destes no meio. Nas células flageladas encontram-se ainda manchas oculares (estigma) as quais se apresentam como organelas de coloração vermelha ou parda, que conferem a capacidade de perceber a intensidade e direção luminosa.

As clorófitas diferem das demais algas eucariontes devido ao armazenamento de substâncias de reserva que ocorre no cloroplasto e não no citoplasma. São encontradas em seus cloroplastos estruturas que ao microscópio óptico aparecem como pequenos corpúsculos e em cuja superfície se aderem pequenos grânulos de amido. Possuem cloroplastos providos de clorofila *a* e *b*, tendo como fonte de reserva o amido, que em solução de lugol cora, facilitando sua diferenciação das demais espécies flageladas dessa divisão. As clorófitas indicam uma boa condição de funcionamento das lagoas; estão sempre associadas a pH elevado e a um meio líquido balanceado em nutrientes

Dentre os gêneros de clorofíceas, um que requer especial atenção, devido à sua ocorrência em sistemas de lagoas, é a do gênero *Chlamydomonas*. Na natureza, esta alga está amplamente distribuída em água doce, salgada e no solo. Indivíduos *Chlamydomonas sp.* são capazes de se mover em direção à luz de intensidades adequadas (RAVEN *et al.*, 1996) e de crescerem em presença de altas cargas orgânicas ou mesmo sobreviver em condições anaeróbias (KÖNIG, 2000). Além deste gênero, podem-se citar como recorrentes os gêneros *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Carteria*, *Micractium*, *Chlorococum*.

3.4 Extração de Lipídeos

Os lipídeos são substâncias insolúveis em água, solúveis em solventes orgânicos, tais como éter, clorofórmio e acetona, dentre outros. Estes são classificados em: simples (óleos e gorduras), compostos (fosfolipídeos, ceras) e derivados (ácidos graxos, esteróis). Os óleos e gorduras diferem entre si apenas na sua aparência física, sendo que a temperatura ambiente os óleos apresentam aspecto líquido e as gorduras, pastoso ou sólido.

A determinação de lipídeos é feita, na maioria dos casos, pela extração com solventes. Quase sempre se torna mais simples fazer uma extração contínua em aparelho do tipo Soxhlet, seguida da remoção por evaporação ou destilação do solvente empregado. O resíduo obtido não é constituído unicamente por lipídeos, mas por todos os compostos que, nas condições da determinação, possam ser extraídos pelo solvente. Estes conjuntos incluem os ácidos graxos livres, ésteres de ácidos graxos, as lecitinas, as ceras, os carotenóides, a clorofila e outros pigmentos, além dos esteróis, fosfatídios, vitaminas A e D, óleos essenciais etc, mas em quantidades relativamente pequenas, que não chegam a representar uma diferença significativa na determinação.

Em certos casos, podem ser aplicados outros métodos na determinação dos lipídeos, tais como: a extração com solvente a frio (método de Blich-Dyer ou Folch), hidrólise ácida (método de Gerber ou Stoldt- Weibull) ou alcalina (método Rose-Gotllieb-Mojonnier). (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008)

Segundo Regitano-d'Arce (1991) a extração de lipídeos com solvente é um processo de transferência de constituintes solúveis de um material inerte, para um solvente com o qual a matriz se acha em contato. Os processos que ocorrem são meramente físicos, pois o lipídeo transferido para o solvente é recuperado sem nenhuma reação química.

Dentre os métodos de extração de lipídeos utilizados por pesquisadores do mundo inteiro, os mais conhecidos e, geralmente, mais efetivos e com melhor rendimento, são os que utilizam a mistura clorofórmio e metanol. Os métodos de Folch *et al.* (1957) e Bligh & Dyer (1959) são eficazes na extração de lipídeos totais, principalmente os polares (NELSON, 1991).

4. METODOLOGIA

4.1. Origem e Características do Lixiviado

O lixiviado bruto utilizado na alimentação do sistema de lagoas de estabilização provém do aterro sanitário de Biguaçu, situado no Km 177 da BR-101 na localidade de Areias de Cima – Biguaçu/SC (27°21'42 S – 48°38'24 O), onde é operado e administrado pela empresa Proactiva Meio Ambiente Brasil Ltda (Figura 4).



Figura 4 - Vista aérea do aterro sanitário de Biguaçu/SC.

Fonte – Google Earth (2010).

Possui uma área de 624.296,42 m² utilizada como destino final de resíduos sólidos urbanos, resíduos sólidos da saúde e inertes. Diariamente, são depositadas (com base na baixa temporada) 600 toneladas de resíduos. Estes são dispostos em células com 3 a 4 metros de altura e cobertos com terra. Os resíduos de serviços de saúde e inertes são tratados de forma diferenciada dos demais, sendo colocados em áreas isoladas utilizando métodos de co-disposição em valas sépticas (SILVA 2007, *apud* FERNANDES, 2009)

Após a drenagem dos líquidos percolados, estes são conduzidos até um poço de equalização, com função apenas de equalizar a vazão e a

carga orgânica do lixiviado, que passará pelo processo de tratamento no próprio aterro, antes de ser lançado no corpo receptor.

Na Tabela 2 são apresentadas as principais características físico-químicas do lixiviado do aterro sanitário de Biguaçu.

Tabela 2 - Principais características físicas e químicas do lixiviado do aterro sanitário de Biguaçu/SC.

Parâmetros	Média ± Desvio Padrão
T (°C)	26 ± 3
pH	8.8 ± 0.2
Condutividade (mS/cm)	19 ± 2
Potencial Redox (mV)	-313 ± 42
DQO (mg/L)	3200 ± 739
DBO5 (mg/L)	1268 ± 607
N-NH4 (mg/L)	1145 ± 234
Sólidos Suspensos (mg/L)	440 ± 178

Fonte - SILVA (2007), *apud* FERNANDES (2009).

O lixiviado bruto utilizado neste trabalho foi retirado do tanque de equalização do aterro sanitário e transportado até o Laboratório Experimental de Resíduos Sólidos da Universidade Federal de Santa Catarina por meio de um caminhão-tanque, onde foi armazenado em um reservatório de fibra de vidro com capacidade de 5.000 litros, conforme apresentado na Figura 5. O reservatório foi provido de tampa para garantir que seu interior permanecesse sem qualquer iluminação, até o seu término. Este lixiviado foi utilizado para alimentar o sistema de lagoas com a vazão pré-estabelecida. Ao término do lixiviado armazenado, era realizada uma nova coleta e transporte do lixiviado.



Figura 5 - Reservatório de fibra de vidro utilizado para armazenamento do lixiviado bruto.

4.2. Unidade Experimental

4.2.1 Localização

Este trabalho foi realizado com auxílio do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica CNPq/PIBIC iniciado em 2009, sendo o projeto piloto do tratamento de lixiviado instalado no setor experimental do LABEFLU - Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasoso e LARESO - Laboratório de Resíduos Sólidos da UFSC, local onde as microalgas foram coletadas.

4.2.2 Descrição do Sistema de Tratamento de Lixiviado

O sistema de tratamento de lixiviado, local onde foi realizada a coleta das microalgas, consiste em um tanque de equalização de fibra de vidro com volume de 1.000 litros e um sistema piloto de lagoas de estabilização formado por três lagoas em série, sendo a primeira com característica anaeróbia (L1) seguida de outra lagoa com característica facultativa (L2) e uma terceira com característica de maturação (L3), esta última sendo utilizada como tanque de cultivo de microalgas, representado através do esquema na Figura 6.



Figura 6 - Fluxograma do tratamento proposto.

A lagoa de estabilização anaeróbia (L1) apresenta formato cilíndrico, feita à base de fibra de vidro, de cor azul claro, com reforço nas suas laterais e dreno para limpeza próximo à base. As lagoas de estabilização aeróbias (L2 e L3) são retangulares e feitas de mesmo material. Estas unidades estão conectadas entre si por meio de tubulações de PVC (localizadas a 20 cm do fundo) com 50 mm de diâmetro, contando ainda com registros para controle do fluxo entre elas, permitindo sua manutenção, sem que haja qualquer interferência.

A vazão de alimentação do sistema é de 80 litros por dia, controlada por uma bomba centrífuga com a vazão pré-determinada, sendo realizada a manutenção da mesma e dos demais equipamentos semanalmente, para manter as condições de tratamento do lixiviado e, com isso, um cultivo contínuo de microalgas para a produção de biodiesel. A comunicação entre as lagoas ocorre por gravidade. Na Tabela 3 encontram-se as dimensões e características físicas das lagoas e na Figura 7 a vista geral do sistema de tratamento.

Tabela 3 - Síntese das características físicas e condições operacionais das lagoas do sistema de tratamento em escala piloto.

Condições aplicadas	Lagoa Anaeróbia (L1)	Lagoa Facultativa e Lagoa de Maturação (L2 e L3)
Comprimento	-	4,35 m
Largura	-	2,40 m
Profundidade	2,5 m	0,75 m
Diâmetro	2,0 m	-
Volume	5,0 m ³	7,85 m ³
Vazão de Alimentação	80 l/d	80 l/d



Figura 7- Vista geral do sistema de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro do Laboratório Experimental de Resíduos Sólidos da UFSC.

Na Figura 8 pode-se observar as microalgas presentes na superfície da lagoa de maturação (L3), utilizada como tanque de cultivo de microalgas.

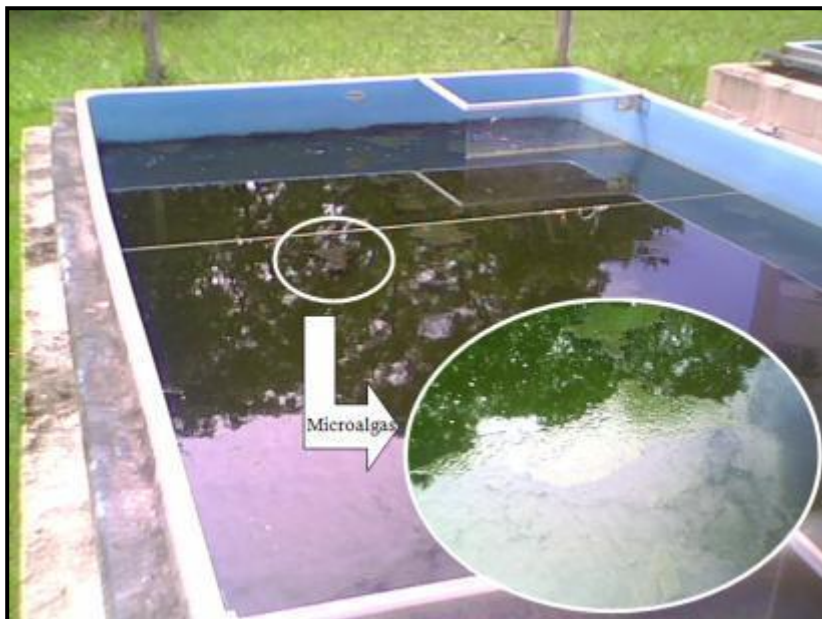


Figura 8 - Microalgas presentes na superfície da lagoa de maturação.

4.3 Processos de Coleta das Microalgas

As microalgas foram coletadas manualmente na superfície da lagoa de maturação (L3) por meio de uma peneira de plástico com 25 cm de diâmetro (Figura 9) e armazenadas em recipientes plásticos com tampa de 2 litros (Figura 10).



Figura 9 – Coleta das microalgas com a peneira.



Figura 10 – Recipiente plástico para armazenamento das microalgas.

Após essas coletas, as microalgas foram levadas ao Laboratório Integrado do Meio Ambiente - LIMA onde foram centrifugadas em uma centrífuga de marca e modelo ALC PK 120 (Figura 11) a uma rotação de 3.000 rpm durante 5 minutos com capacidade para quatro tubos tipo Falcon de plástico de 50 ml (Figura 12). O objetivo da centrifugação é separar a massa de microalgas da parte líquida.



Figura 11 – Centrífuga.



Figura 12 - Tubos tipo Falcon.

O sobrenadante foi removido e o restante (concentrado) foi armazenado em um recipiente plástico de 2 litros (A). Em seguida, o concentrado foi encaminhado para o processo de secagem em estufa.

O concentrado foi distribuído uniformemente sobre a forma de alumínio (B) no total de três formas (C). Em seguida, cada forma foi colocada na estufa (D) onde ficaram durante 24 horas a 50°C. Após esse período (E), a massa seca foi raspada e armazenada em sacos plásticos com vedação (F) (Figura 13).

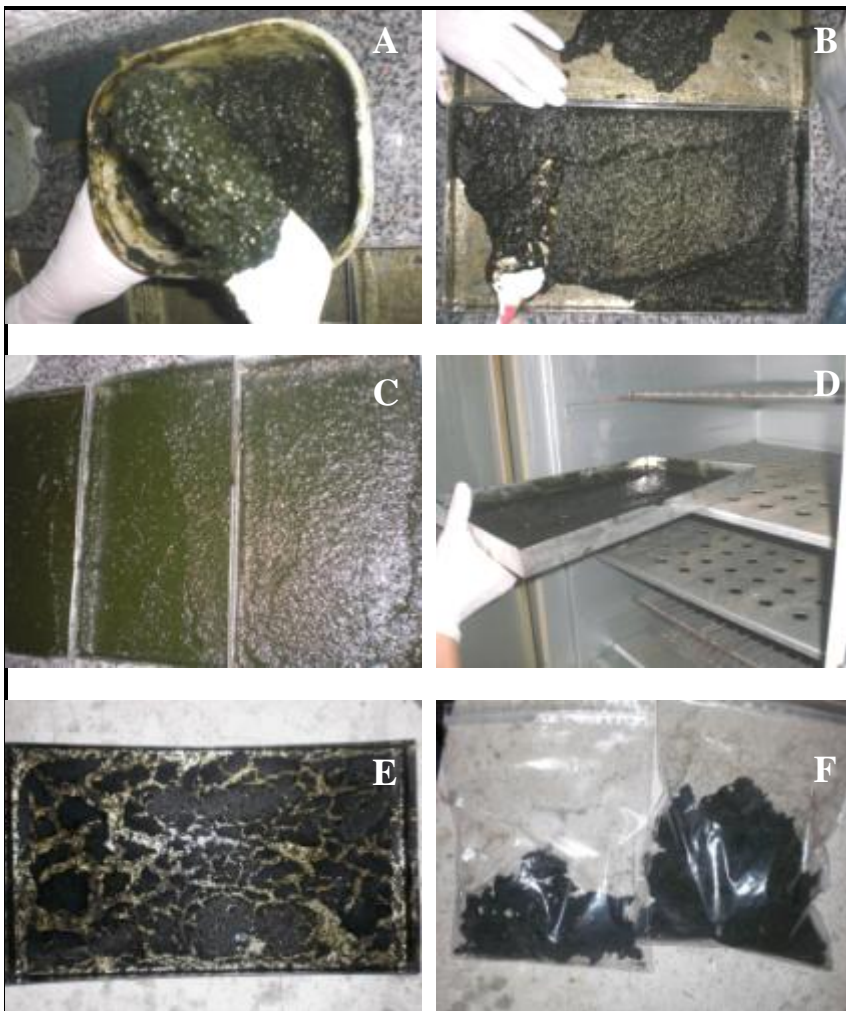


Figura 13 – Processo de preparo e secagem das microalgas na estufa.

Em seguida, a biomassa seca foi triturada em um liquidificador (Figura 14) e armazenada na geladeira dentro de um saco plástico com vedação (Figura 15) para posterior processo de extração de lipídeos através de solventes, e, por fim, para estar pronta para ser produzido biodiesel, como se pode observar no fluxograma na Figura 16.



Figura 14 - Liquidificador usado para triturar a biomassa seca.



Figura 15 - Biomassa seca após ser triturada.

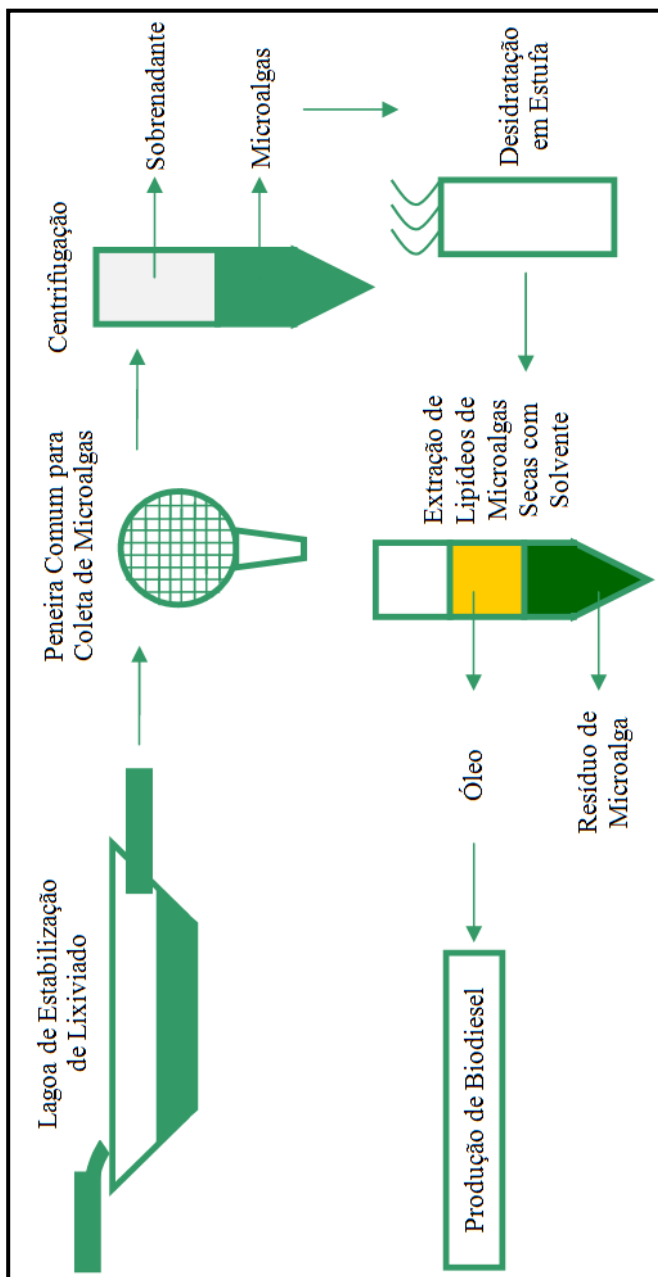


Figura 16 - Fluxograma do processo metodológico de coleta e extração de lipídeos de microalgas.

4.4 Contagem das Microalgas

A contagem das microalgas foi realizada no LIMA em Câmara de Sedgewick-Rafter (50 mm x 20 mm x 1 mm) para um volume de 1 mL (Figura 17) utilizando microscópio óptico com aumento de 200x.



Figura 17 - Câmara de Sedgewick-Rafter de 1 mL.

Esta contagem tem como finalidade saber a quantidade de microalgas produzidas nas diferentes épocas do ano e, dessa forma, estimar a biomassa algal por m³ de lagoa.

4.5 Processos de Extração de Lipídeos

Para a extração dos lipídeos, foram utilizadas duas metodologias. A primeira foi a metodologia de Zhu e colaboradores (2002) com clorofórmio/metanol e a segunda a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008) com éter etílico. O resultado foi analisado em cromatografia gasosa para perfil de ácidos graxos (AOAC - 996.06-2000).

4.5.1 Extração com clorofórmio/metanol

O primeiro processo de extração de lipídeos foi realizado segundo a metodologia de Zhu e colaboradores (2002) no LIMA no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC. As microalgas secas em estufa foram pesadas dentro de um erlenmeyer de 500 mL em uma balança analítica de precisão (Figura 18) e o ensaio foi realizado a partir de 50g de microalga seca com 300 ml de solvente.



Figura 18 - Microalgas secas pesadas em balança analítica de precisão.

Foi utilizado como solvente de extração a mistura de clorofórmio/metanol (Método de Bligh & Dyer) na proporção de 2:1, respectivamente. Após a adição dos solventes dentro do erlenmeyer (Figura 19), a mistura das microalgas secas com os solventes foi levada a uma incubadora de bancada refrigerada da marca Cientec, modelo CT-712 R, onde foi feita a agitação por 2 horas a 130 rpm e temperatura ambiente (Figura 20).



Figura 19 - Mistura das microalgas secas com clorofómio/metanol.



Figura 20 - Incubadora de bancada refrigerada.

Após a agitação, a mistura foi filtrada em um filtro de vidro com placa porosa com o auxílio de uma bomba de vácuo (Figura 21). A

massa seca de microalgas que não foi extraída pelo solvente foi descartada e o filtrado foi colocado em um balão volumétrico de 1.000 mL.



Figura 21 - Filtro de vidro com placa porosa e bomba de vácuo.

Em seguida, o filtrado foi levado a um rotaevaporador que separa o solvente da fração lipídica (Figura 22). Este equipamento faz com que o solvente seja evaporado e recuperado em outro balão volumétrico e o que resta do volume inicial seja apenas os lipídeos de microalgas que será a matéria-prima utilizada para a produção de biodiesel (Figura 23).



Figura 22 – Rotaevaporador.



Figura 23 – Balão volumétrico antes e após a evaporação do solvente.

4.5.2 Extração com éter etílico

O segundo processo de extração de lipídeos foi realizado segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz – Item 034/IV - Lipídios ou extrato etéreo com hidrólise ácida prévia – Método B - página 119 (2008) no LABCAL da UFSC. A amostra de microalga seca foi levada

ao laboratório onde a equipe técnica do mesmo realizou a extração de lipídeos utilizando como solvente de extração éter etílico (Método de Soxhlet) (Figura 24). Nesse mesmo laboratório foi analisado o teor de lipídeos presentes na massa de microalgas por cromatografia gasosa.



Figura 24 - Soxhlet

Fonte - www.jafquimica.com.br

5. RESULTADOS

As microalgas foram coletadas em dias quentes com sol intenso e por volta do meio-dia, horário em que elas afloram a superfície facilitando a sua coleta com a peneira. Nesse horário, a temperatura do efluente era de aproximadamente 30°C.

No processo de centrifugação, o volume centrifugado foi concentrado e reduziu para 45,0% do volume inicial coletado na lagoa de maturação, pois nesta etapa foi removido o sobrenadante que é composto basicamente de água. Após o concentrado sofrer desidratação na estufa, restou apenas 6,24% de massa de microalga seca do total que foi centrifugado. (Figura 25).

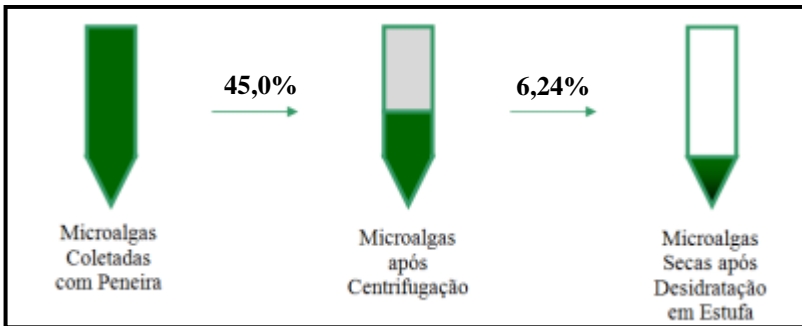


Figura 25 - Processo de concentração do volume de microalgas.

Na Figura 26 abaixo se observa as *Chlamydomonas sp.* presentes na lagoa de maturação com aumento de 400 vezes e 1.000 vezes, respectivamente, em microscopia óptica.



Figura 26 – *Chlamydomonas sp.* presentes na lagoa de maturação.

Fonte – FERNANDES (2009).

A contagem das microalgas presentes por m³ na lagoa de maturação, realizada em Câmara de Sedgewick-Rafter para um volume de 1 mL, foi feita durante diversos dias nos meses de agosto de 2010 e janeiro de 2011, caracterizando as estações do ano de inverno e verão, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 - Contagem das *Chlamydomonas* presentes na lagoa de maturação.

<i>Chlamydomonas</i>	Inverno	Verão
Contagem Média em 1 mL	17.400	47.330
Total Presentes por m ³	1,74E10	4,73E10
Estimativa para a Lagoa de Maturação	1,37E11	3,72E11

Observa-se que durante o verão a quantidade de microalgas presentes na lagoa de maturação é quase três vezes maior do que no inverno. Isto se deve ao fato de durante o verão a irradiação solar ser mais intensa e o dia mais quente e mais longo, fazendo com que as microalgas se reproduzam mais rapidamente.

Após a extração realizada com éter etílico, a análise das microalgas realizada no LABCAL da UFSC, em cromatografia gasosa para perfil de ácidos graxos (AOAC - 996.06-2000) constatou-se a presença de 7,42g de lipídeos em 100g de massa de microalga seca, como observado na Figura 27 e na Tabela 5.

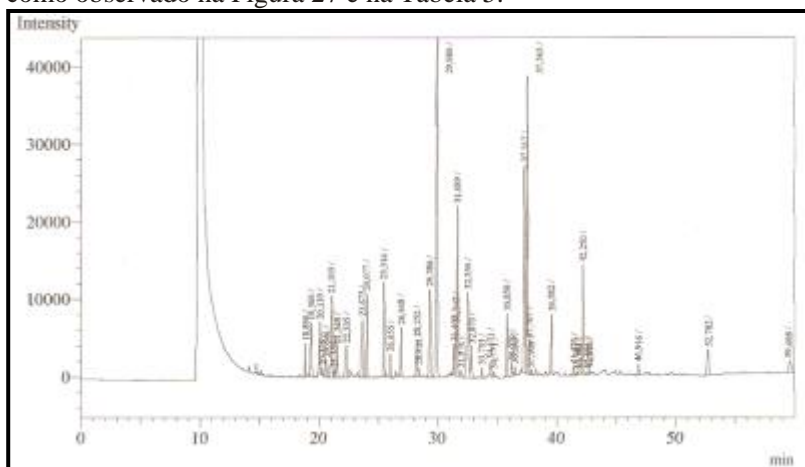


Figura 27 - Análise de ácidos graxos realizada em cromatografia gasosa para perfil de ácidos graxos.

Tabela 5 - Quantidade de lipídeos presentes em 100 gramas de microalga seca.

Lipídeos Totais	7,42 g	100,00%
Saturada	2,54 g	34,27%
Monoinsaturada	2,37 g	31,89%
Poliinsaturada	0,54 g	7,22%
Trans	< 0,1 g	0,01%
Não Identificados	1,97 g	26,61%

Já na extração realizada com clorofórmio/metanol no LIMA constatou-se a presença de 6,18 g de lipídeos em 50g de massa de microalga seca e 6,28 g de lipídeos em 50g de massa de microalga seca nas duas extrações realizadas, sendo calculada apenas a quantidade de lipídeos totais através da diferença de peso entre o peso inicial antes da extração e o peso final após a extração do balão volumétrico.

Dessa forma, através da extração com clorofórmio/metanol, a quantidade de lipídeos presentes nas microalgas foi em média de 12,46%.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos conclui-se que é possível produzir biodiesel a partir de microalgas oriundas de sistema de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro sanitário, uma vez que a quantidade de lipídeos que essas microalgas possuem representa um valor a ser considerado, comparado com a quantidade de lipídeos que as mesmas microalgas possuem quando cultivadas em laboratório ou até mesmo em larga escala.

A quantidade de lipídeos que se obteve foi em torno de metade da quantidade encontrada em cultivos de *Chlamydomonas* em laboratório e tendo em vista a economia com o seu cultivo, como meios de cultura, construção de reatores e controle de temperatura e iluminação, além da ajuda de mitigar os custos e remediação ambiental dos efluentes pode ser considerada economicamente viável a produção de biodiesel de microalgas através do sistema proposto.

A melhor época do ano para ter um cultivo maior de microalgas é durante o verão, onde número de microalgas encontrado foi maior do que no inverno, mostrando que a melhor época é no período com temperatura mais elevada e dias mais longos, período em que elas se reproduzem mais.

O processo de extração com clorofórmio/metanol pelo Método de Bligh & Dyer foi mais eficiente do que com éter etílico pelo Método de Soxhlet com um aumento de quase 70% na quantidade de lipídeos extraídos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 8419: Apresentação de projetos de aterros sanitários de resíduos sólidos urbanos.** São Paulo. 1996. 7 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (method 920.39,C). Arlington: A.O.A.C., 1995, chapter 33. p. 10-12

BEYRUTH, 1996. Citado por: MARTINS, Cláudia Lavina *et al.* **Avaliação da Aeração no Tratamento de Lixiviado de Aterro Sanitário por Lagoas de Estabilização.** In: SIMPÓSIO ÍTALO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 10., 2010, Maceió. Florianópolis: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2010. p. 1 - 9.

BIODIESELBR.COM (Brasil). **Algas começam a virar biodiesel na Argentina.** Traduzido por Alice Duarte. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/bio/algas-biodiesel-argentina-310810.htm>>. Acesso em: 18 set. 2010.

BRANCO, S. M. **Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária.** 3 ed., CETESB, São Paulo, 1986. 616 p.

BRASIL. Casa Civil (Org.). **Lei N° 11.097, de 13 de Janeiro de 2005.** Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/Lei/L11097.htm>. Acesso em: 17 set. 2010.

BRASIL. Comissão Executiva Interministerial (Org.). **Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel.** Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br>>. Acesso em: 17 set. 2010.

BRUM, Aelson Aloir Santana. **Métodos de Extração e Qualidade da Fração Lipídica.** 2004. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CASTILHOS JUNIOR, Armando Borges de *et al.* (Org.). **Gerenciamento de resíduos sólidos urbanos com ênfase na proteção de corpos d'água: prevenção, geração e tratamento de lixiviados de**

aterros sanitários. Programa de Pesquisas em Saneamento Básico - PROSAB - Edital 04. 2006.

CLÁUDIA MARIA LUZ LAPA TEIXEIRA (Brasil). Divisão de Energia do Instituto Nacional de Tecnologia. **Um Novo Sistema de Cultivo de Microalgas para a Produção de Biodiesel.** Rio de Janeiro. 2007. 6 p. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/agricultura/74.pdf>>. Acesso em: 18 set. 2010.

CURTIS, T. P. et al. **Light penetration in waste stabilization ponds.** Water Research, v. 28, n. 5, p. 1031- 1038. 1994.

DERNER, Roberto Bianchini et al. **Microalgas, produtos e aplicações.** Florianópolis: Ciência Rural - Santa Maria, 2006. 9 p.

D'OCA, Marcelo G. Montes et al. **Extração de lipídeos de *Chlorella pyrenoidosa* utilizando etanol e metanol** – XVII Encontro de Química da Região Sul (17-SBQsul). 2009.

FERREIRA, J. A.; GIORDANO, G.; RITTER, E. **Revisão das Técnicas de Tratamento de Chorume e a Realidade do Estado do Rio de Janeiro.** In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 21, Joinville, 2003. *Anais. Joinville: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária, 2003.*

FERNANDES, Heloísa. **A dinâmica da biota em um sistema de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro sanitário.** 2009. 183 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Departamento de Programa de Pós- Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

GOTARDO, J. T. **Perfil Longitudinal de uma lagoa facultativa de tratamento secundário de esgoto doméstico aplicada nas condições ambientais do sul do Brasil.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4. ed. 1. ed. digital. São Paulo: IMESP, 2008. p. 119-120.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. 4. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2005.

KNOTHE, Gerhard *et al.* **Manual do Biodiesel**. 1^a ed. Tradução: Luiz Pereira Ramos. São Paulo: Edgard Blucher Ltda., 2006. 340 p.

MASSARET E., AMBLARD C., BOURDIER G. AND SARGOS D. **Effects of a waste stabilization lagoon discharge on bacterial and phytoplanktonic communities of a stream**. Water Environmental Research, 72 (3), 285 – 294, 2000.

PÉREZ, Homero E. Bañados. **Biodiesel de Microalgas**. Curitiba: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN; Energia Verde – Biodiesel, MDL e Tecnologia em Microalgas, 2007. 19 p. Parte 1.

TEIXEIRA, Cláudia Maria; MORALES, Maria Elizabeth. **Microalga como matéria-prima para a produção de biodiesel**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Tecnologia., 2006. 6 p.

VON SPERLING, Marcos. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Lagoas de Estabilização**. 4. ed. Belo Horizonte: Segrac, 1996. 140 p.

ZHU, M., ZHOU, P.P., YU, L.J. **Extraction of lipids from *Mortierella alpina* and enrichment of arachidonic acid from the fungal lipids**. Bioresource Technology 84. 2002. 93-95 p.