



EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE MICROALGAS DE LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO

DOI:10.19177/rgsa.v7e32018320-349

Keville Pereira de Oliveira¹

André Luís Calado Araújo²

Marta Costa³

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar, de maneira geral, o perfil dos constituintes metabólicos das biomassas provenientes de lagoas de estabilização da ETE de Ponta Negra, Natal-RN, visando sugerir aplicações futuras. 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 os coagulantes policloreto de alumínio e o cloreto férrico. Para a extração do material lipídico da biomassa foram usados um agitador mecânico associado a um banho ultrassônico utilizando n-hexano. O material lipídico extraído da biomassa foi analisado utilizando as técnicas de FTIR, TGA e CCD. A biomassa seca e residual, após a extração do óleo, foi avaliada utilizando a técnica de FAAS. Os resultados revelaram que as espécies predominantes detectadas nas lagoas foram de *synechococcus sp.*, *Synechocystis sp.* e *Chlorella sp.* O melhor rendimento do teor de material lipídico na biomassa foi verificado na amostra da lagoa facultativa aerada com coagulante policloreto de alumínio (5,18%). 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 seca e residual. 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. Além disso, foi verificado que os coagulantes utilizados no processo de flotação provocaram um aumento da concentração de metais na biomassa seca e residual, limitando a sua reutilização em aplicações futuras.

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

¹Bacharel em Química (UFRN), Especialização em Educação de Jovens e Adultos (IFRN), Mestrando em Ciências Ambientais (IFRN). Técnico de Laboratório/Ciências (IFRN). E-mail: Keville.oliveira@ifrn.edu.br

²Eng. Civil (UFPA), Mestrado em Eng. Sanitária (UFPA), Doutorado em Eng. Civil - University of Leeds, Pós-doutor em Eng. Sanitária - University of Leeds. Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte. E-mail: andre.calado@ifrn.edu.br

³Eng. Química (UFRN), Mestrado em Síntese Orgânica (UNB), Doutorado em Síntese de Produtos Naturais (UNICAMP). Professora adjunta do Departamento de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. E-mail: martacostamc@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

O sistema de tratamento de esgoto por meio de lagoas de estabilização hoje é um dos mais utilizados no Brasil, pois segundo Von Sperling (2005), apresenta como vantagens o baixo custo de implantação e a 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 CO₂, 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, isso porque novas alternativas de produção de biocombustíveis utilizando as microalgas vêm sendo estudadas e desenvolvidas, 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 etanol respectivamente (TABATABAEI et al., 2011).

As microalgas apresentam rendimentos tanto em termos de biomassa quanto 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 possível utilização da biomassa algal de lagoas de estabilização como fonte de energia renovável tem se mostrado de extrema importância, 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, 2015). 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.

Assim, de acordo com o exposto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar de maneira geral o perfil dos constituintes metabólicos das biomassas provenientes das lagoas de estabilização da ETE de Ponta Negra, Natal-RN visando sugerir aplicações futuras.

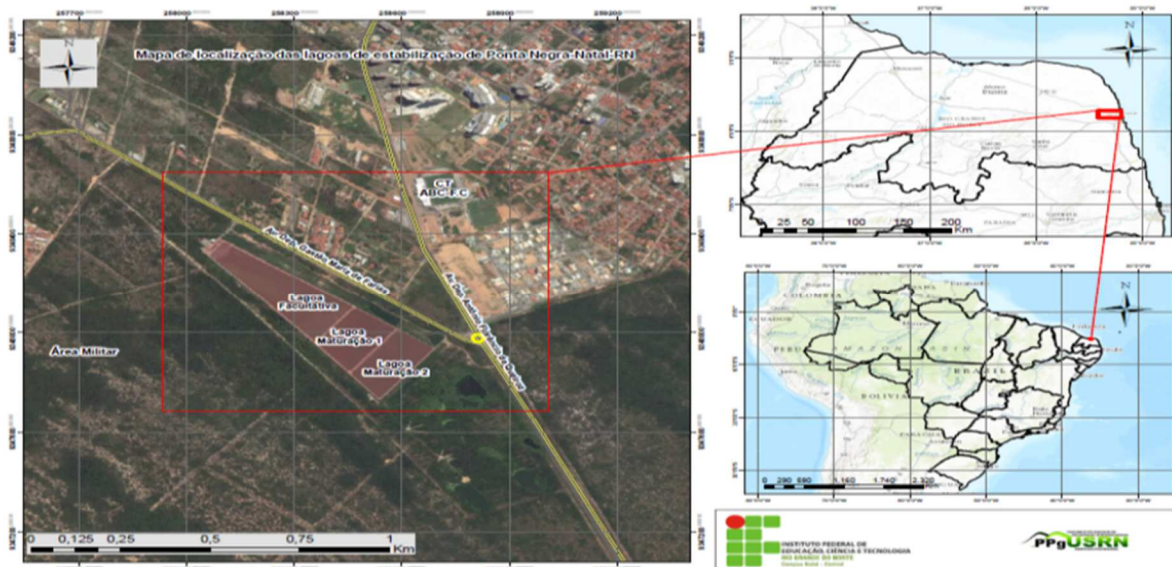


2 METODOLOGIA

2.1 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 1.

Figura 1 – 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 $134 \text{ L}\cdot\text{s}^{-1}$ (CAERN, 2016).

2.2 COLETA DO EFLUENTE

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

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.

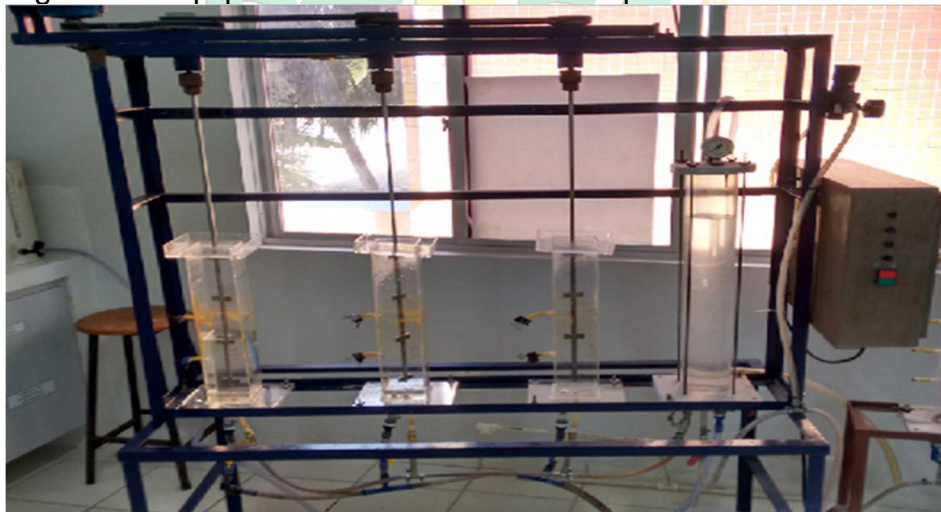
2.3 REMOÇÃO E SECAGEM DA BIOMASSA ALGAL

Para separar a biomassa do efluente da lagoa de estabilização foram utilizados os métodos de centrifugação e flotação por ar dissolvido (FAD).

2.3.1 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 2).

Figura 2 – 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 1).

Tabela 1 – Amostras e pH utilizados na flotação

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

Fonte: Autoria própria (2017).

Os parâmetros utilizados na correção do pH das amostras foram baseados em estudos já realizados por Brito (2016), na lagoa de estabilização de Ponta Negra, cujo objetivo foi avaliar por meio de ensaios de bancada a eficiência da FAD no pós-tratamento de efluentes. A pesquisa do autor utilizou ensaios no flotateste com o coagulante policloreto de alumínio (Aln (OH)m Cl₃ n-m) com cinco valores de pH (6,5; 7,0; 7,5; 8,0 e 8) e para o cloreto férrico (FeCl₃) foram utilizados sete valores de pH (5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 e 8). Esses valores foram adotados para observar qual seria o melhor pH a ser adotado no flotateste. Os resultados mostraram que o cloreto férrico com faixa de pH entre 5 e 5,5 resultou em maior eficiência de remoção da biomassa algal no processo. Mas, segundo o autor, recomenda-se a utilização do pH 5,5, pois o gasto com ácido para baixar o pH natural do efluente da lagoa para 5,5 é menor do que 5. Já em relação ao policloreto de alumínio, o pH natural (entre 7 e 7,5) tiveram os melhores rendimentos na remoção. Dessa forma, esse trabalho optou-se por utilizar o pH 7 por ser um valor bem próximo ao pH natural da lagoa.

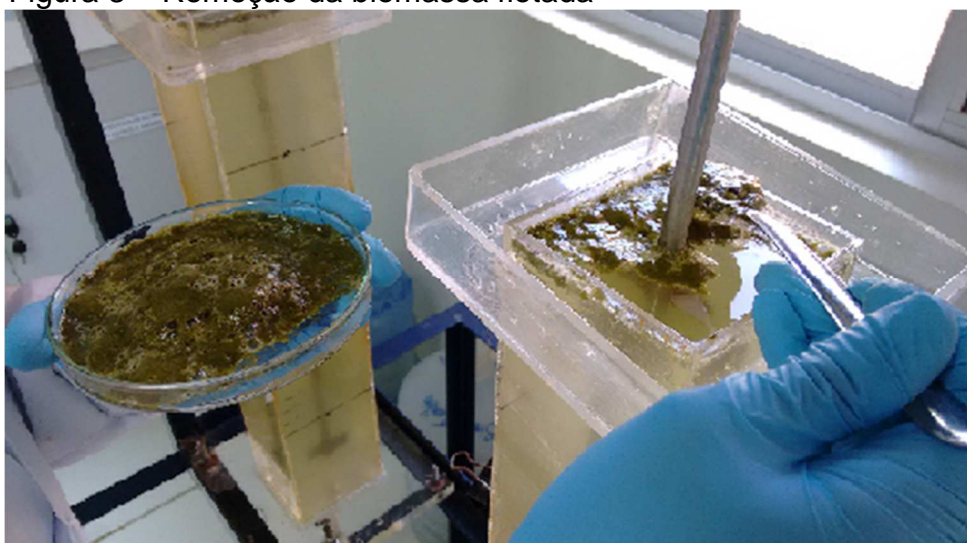
Após a correção do pH foram colocadas, aproximadamente, 2 litros de amostra em cada coluna de flotação do equipamento. Em seguida, a câmara de saturação foi preenchida com água e depois com ar comprimido até ficar saturada à uma pressão em torno de 4 Bar, por um período de 20 minutos. Na coluna de flotação foi estabelecido um gradiente de velocidade de 274 s⁻¹ e uma rotação de

220 rpm na mistura rápida com um tempo de 20 segundos. Na mistura lenta foi fixado um gradiente de 63 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 dosagens de coagulantes e gradientes de velocidade estabelecidas nessa pesquisa também foram baseadas nos estudos de Brito (2016). Na pesquisa do autor foram testadas seis doses de coagulantes na faixa de 25 a 150 mg/L para avaliar os tamanhos dos flocos durante a floculação. Os resultados revelaram que a eficiência na remoção no processo aumenta com o aumento da dosagem. No entanto, a faixa acima de 100mg/L não são tão significativas na remoção da biomassa. Por essa razão a melhor dosagem para os dois tipos de coagulantes utilizados foi 100 mg/L, porém os valores de 75 e 100 mg/L são significativamente iguais e, por isso, recomenda-se utilizar o valor de 75 mg/L afim de otimizar o sistema.

Após a floculação, os agitadores foram desligados e foi injetada água saturada nas colunas para promover o processo de flotação. Depois da flotação, a biomassa suspensa era retirada da coluna com o auxílio de uma colher de inox. Posteriormente, a biomassa foi transferida para uma placa petri de 100 mm x 15 mm devidamente identificada (Figura 3).

Figura 3 – Remoção da biomassa flotada



Fonte: Autoria própria (2017).

2.3.2 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 da marca Centribio. Foi utilizada uma 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, devidamente identificadas.

2.3.3 Secagem

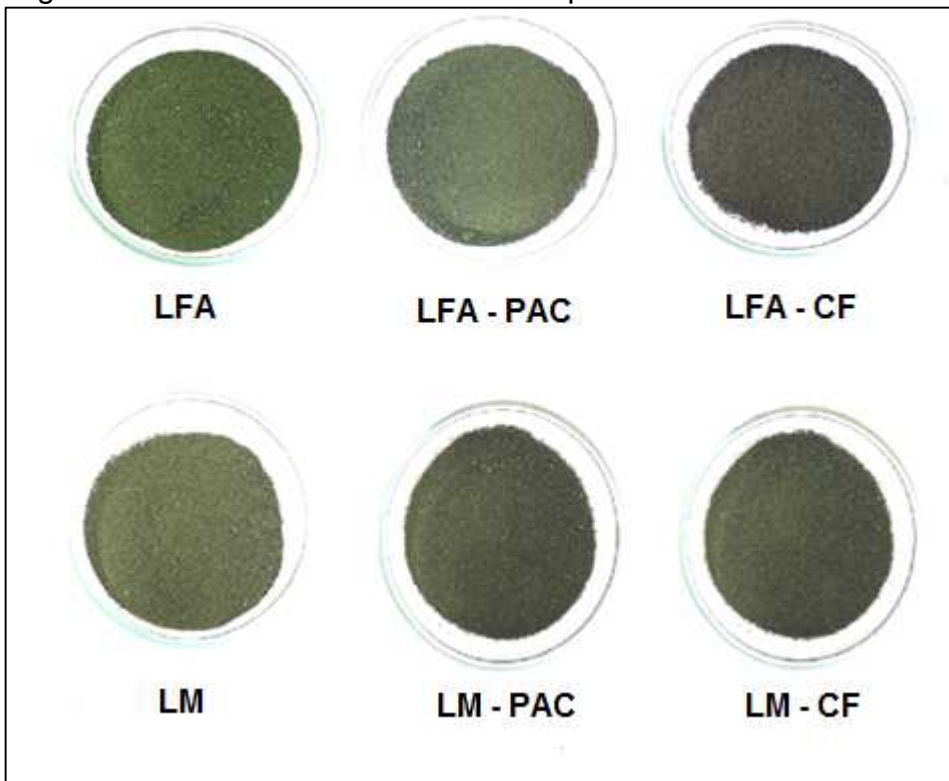
A biomassa recuperada pelos métodos de flotação e centrifugação foram secas em estufa de 20 L com circulação de ar forçado da marca Nova Ética a uma temperatura de 60 °C. Passadas as 24 h iniciais, a cada 1h as amostras eram pesadas até a obtenção de um peso constante, evidenciando que a biomassa estaria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

2.4 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 μm de abertura (Figura 4).

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 5).

Figura 4 – Biomassa seca macerada e peneirada



Fonte: Autoria própria (2017).

Figura 5 – Sistema de agitação mecânica associado ao banho ultrassônico

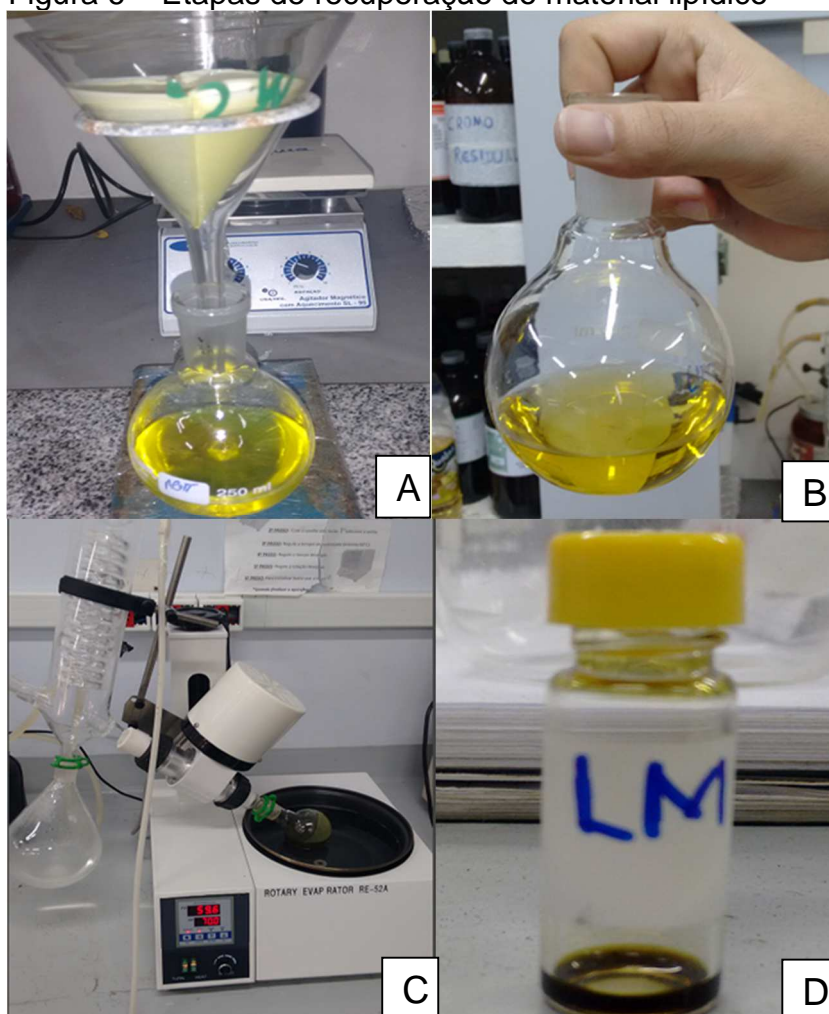


Fonte: Autoria própria (2017).

Posteriormente, a amostra foi submetida a um sistema de filtração simples utilizando um papel filtro quantitativo (J Prolab) com gramatura de 80 g/m² e poros de, em média, 8 µm (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 °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 6.

Figura 6 – Etapas de recuperação do material lipídico



Fonte: Autoria própria (2017).

As análises dos cálculos dos teores dos materiais lipídicos extraídos foram feitas em duplicata e determinou-se a média e o desvio padrão das medidas. O teor lipídico foi calculado de acordo com a (Equação 1):

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

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

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

Para a identificação das microalgas, 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.

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



A análise por espectroscopia dos materiais lipídicos extraídos das biomassas foi realizada por 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 cm^{-1} e foram adquiridos com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans/min.

2.7 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 utilizando placas de alumínio ALUGRAM SIL G/UV254 de 20 x 20 cm de dimensões da marca MACHEREY – NAGEL, ativadas a 100 °C.

Para obtenção dos fatores de retenção (R_f), foram utilizados como padrão de triglicerídeos e ácidos graxos o óleo de soja comercial e ácido esteárico ($C_{18}H_{36}O_2$) 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 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).

2.8 CARACTERIZAÇÃO POR TERMOGRAVIMETRIA (TGA) DA BIOMASSA SECA E DO MATERIAL LIPÍDICO



As análises termogravimétricas das amostras da biomassa seca e do material lipídico foram realizadas utilizando 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_2 , Vazão do gás: 50 mL/min, cadinho de platina e 15 mg da massa seca de cada amostra da biomassa e do extrato.

2.9 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 utilizando a metodologia EPA 3051A para a abertura das amostras 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.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 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 2, onde se observam os gêneros ou espécies identificadas, bem como os táxons a que estes pertencem. Foram identificados no estudo 28 táxons fitoplanctônicos, sendo que 12 espécies pertencem à divisão Chlorophyta.

Tabela 2 – 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>Centrtractus sp.</i>	X	X
Cryptophyta	<i>Chroomonas sp.</i>	X	-
	<i>Cryptomonas sp.</i>	X	-
Charophyta	<i>Closterium sp.</i>	X	X

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 (ω 3 ou ω 6, onde ω x identifica a posição aonde se encontra a primeira instauração); as Bacillariophyceae são produtoras de ácidos graxos poli-insaturados C20:5 ω 3 e C22:6 ω 3; em Euglenophyceae C18:2 e C18:3 ω 3 e em Cyanobacteria C16:0, C18:2 e C18:3 ω 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 apresenta 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.

3.2 RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES

Os resultados dos rendimentos das extrações do material lipídico das biomassas (Tabela 3) mostraram que as amostras LFA e LM foram muito semelhantes, pois o quantitativo de espécies de microalgas potencialmente produtoras de óleo também foram semelhantes. Além disso, o método de centrifugação utilizado para a recuperação da biomassa provoca perdas de biomassa após os sobrenadantes serem removidos do tubo de ensaio. Dessa forma, algumas espécies de microalgas, que provavelmente sejam boas produtoras de óleo, podem ter sido descartadas, alterando o rendimento das extrações do material lipídico das amostras da LFA e LM.

Tabela 3 – Material lipídico extraído das microalgas

Amostras	Material lipídico extraído (%)
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).

Quando se compara os rendimentos obtidos nas amostras submetidas aos coagulantes durante o processo de flotação, nota-se que a biomassa proveniente da lagoa de maturação (efluente final) não apresentou índices elevados, diferentemente do que ocorreu com as amostras da lagoa facultativa aerada. Tal fato é explicado devido às lagoas facultativas aeradas serem projetadas para receber águas residuárias brutas com altas cargas orgânicas e nutricionais (carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre), essenciais para o crescimento celular e para o metabolismo das microalgas (KELLNER; PIRES 1998), enquanto que as lagoas de maturação apresentam baixa carga orgânica e menos nutrientes, já que a finalidade delas é remover organismos patogênicos e nutrientes, ou seja, a desinfecção do efluente e retenção de DBO. Dessa forma, nesse tipo de tratamento, a remoção da matéria orgânica geralmente é baixa, portanto a entrada de carga orgânica deve ser pequena (VON SPERTLING, 2013).

Logo, os melhores rendimentos obtidos pelas amostras da lagoa facultativa aerada, podem estar relacionados às altas taxas de carga orgânica e nutricionais, que são atribuídas à lagoa, proporcionando melhor desenvolvimento metabólico das espécies.

3.3 ANÁLISE DO MATERIAL LIPÍDICO POR ESPECTROSCOPIA DO INFRAVERMELHO

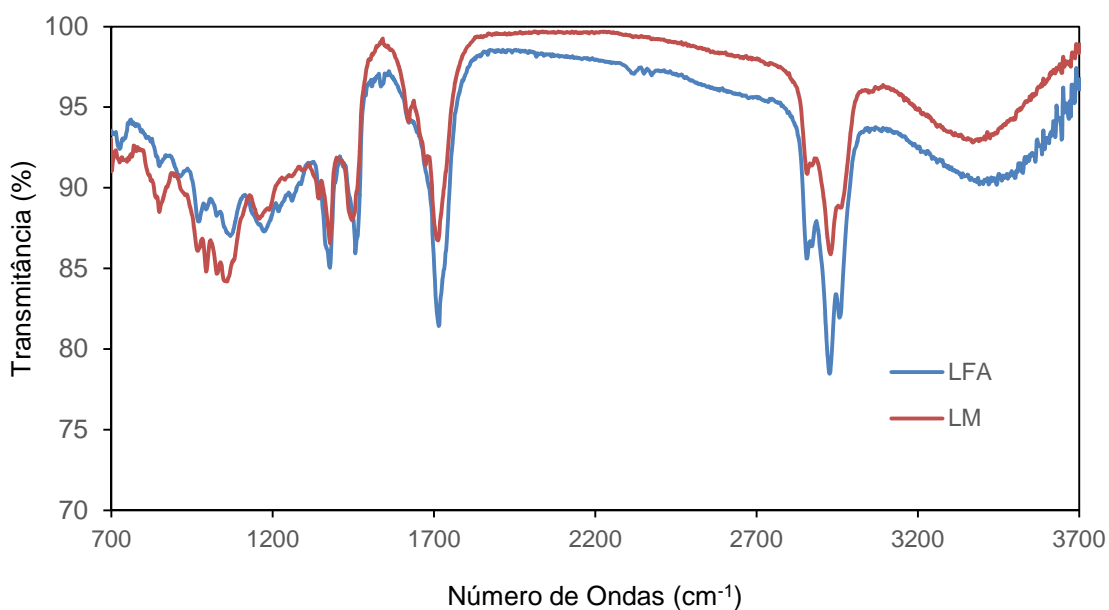
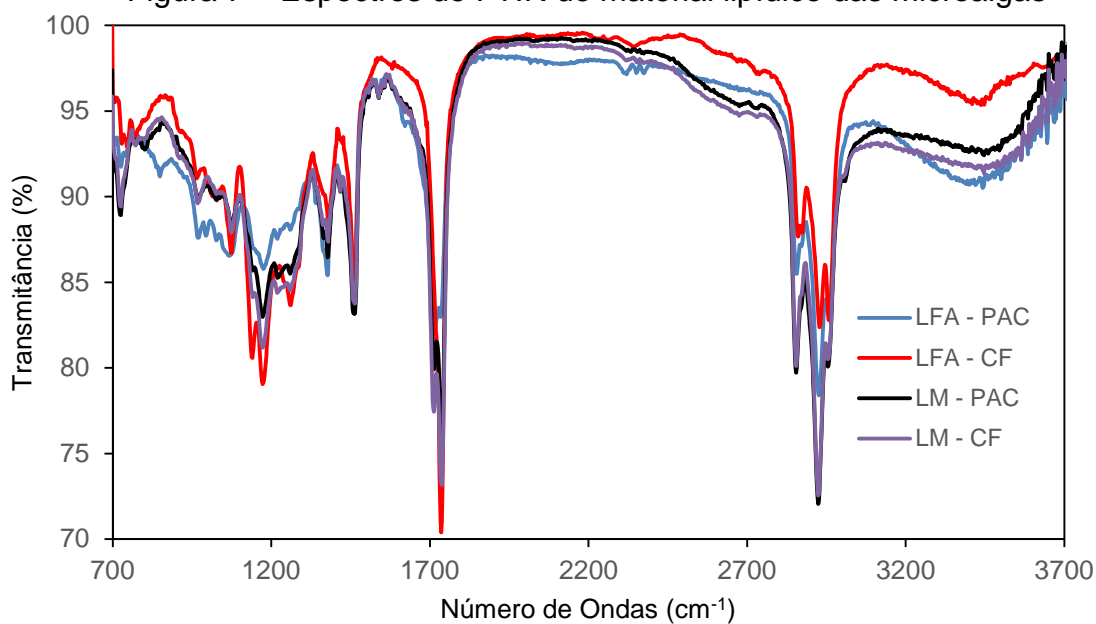
Os resultados do infravermelho por transformada de Fourier (Figura 7) indicaram que as amostras com aplicação de coagulantes apresentaram espectros com bandas de absorção relacionadas à presença de grupamento alcano em 2854 e 2926 cm^{-1} , que correspondem ao estiramento dos grupos CH. Os espectros detectaram também duas bandas médias referentes à deformação axial do grupamento éster (C-O) em 1172 e 1259 cm^{-1} , bem como a presença de uma banda atribuída ao grupo $(\text{CH}_2)_n$, a qual pode ser observada em 725 cm^{-1} . As vibrações de estiramento da ligação referente à carbonila (C=O) de ésteres, que ocorrem entre 1750 e 1730 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 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 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 cm^{-1} (deformação axial assimétrica de C-H), 2856 cm^{-1} (deformação axial

simétrico C-H), 1749 cm^{-1} (deformação axial do grupo C=O), 1454 cm^{-1} (deformação angular tipo “scissoring” de C-H), 1166 cm^{-1} (deformação angular de C-O e C-H) e 709 cm^{-1} (deformação angular tipo “rocking” de $(-\text{CH}_2-)_n$). Dessa forma, os resultados encontrados nas amostras supracitadas evidenciam picos de absorção que caracterizam grupos funcionais de éster.

Figura 7 – Espectros de FTIR do material lipídico das microalgas

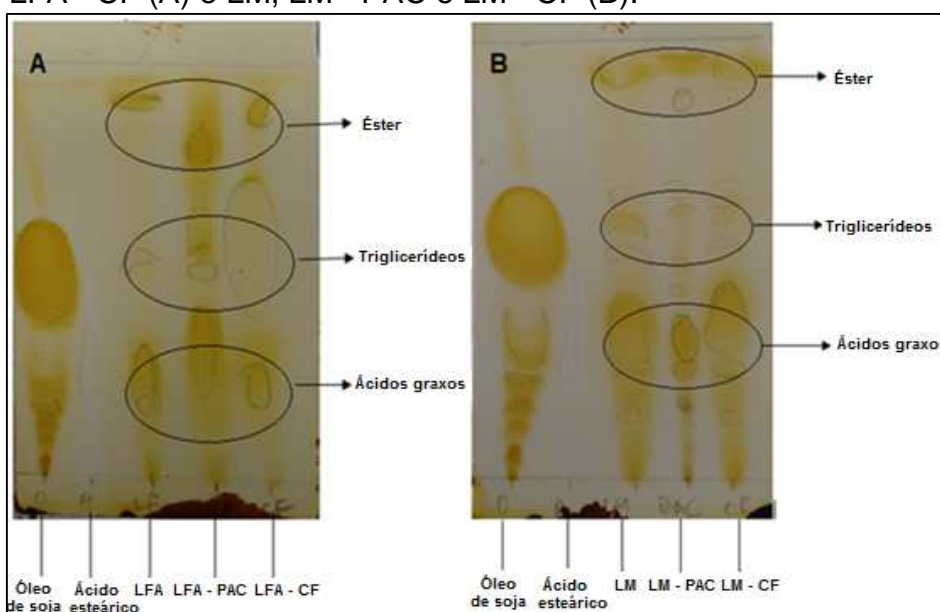


Fonte: Autoria própria (2017).

3.4 A NÁLISE DO MATERIAL LIPÍDICO POR CROMATOGRAFIA 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 8). 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 8 – 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 4 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 4 – 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.

3.5 ANÁLISE DE FERRO E ALUMÍNIO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA DA BIOMASSA SECA E RESIDUAL

Os resultados da absorção atômica (Tabela 5) permitem inferir que a biomassa seca da LFA possui maiores teores de ferro (Fe) e alumínio (Al) totais, quando comparada a LM. Uma explicação plausível para o comportamento supracitado é a diferença na composição dos efluentes recebidos pelas lagoas, pois a LFA recebe o esgoto bruto (provavelmente mais suprido em metais). O fato pode corroborar para ocorrência de processos de bioabsorção, incrementando o teor de metais na biomassa, enquanto que a LM acolhe um efluente mais tratado, que poderia explicar a menor quantidade de metais presentes na amostra. Os processos de bioabsorção com as microalgas vêm sendo muito utilizados nos tratamentos de efluentes domésticos e industriais, em razão desses microorganismos terem a capacidade de remover com facilidade metais pesados nos efluentes e, dessa forma, promover o seu polimento.

Veit et al. (2009) pesquisaram a bioabsorção de níquel e cromo em um efluente de galvanoplastia utilizando alga marinha pre-tratada em coluna. Os resultados demonstraram que a biomassa de *Sargassum filipendula* empregada teve boa

capacidade de biossorção dos íons metálicos, indicando perspectivas de uso no tratamento desses efluentes industriais.

Tabela 5 – Resultado quantitativo de ferro e alumínio na biomassa seca e residual

Amostra	Biomassa seca		Biomassa Residual	
	Ferro (Fe) (mg.kg ⁻¹)	Alumínio (Al) (mg.kg ⁻¹)	Ferro (Fe) (mg.kg ⁻¹)	Alumínio (Al) (mg.kg ⁻¹)
LFA	1.611,41	526,00	1.357,82	351,49
LM	1.243,70	282,27	1.070,63	211,49
LFA - PAC	5.498,15	66.167,38	4.707,61	35.464,74
LM - PAC	6.595,24	71.935,13	5.293,97	65.768,07
LFA - CF	47.075,45	1.970,25	39.531,47	1.595,93
LM - CF	46.827,96	733,94	59.148,39	330,37

Fonte: Autoria própria (2017).

Em relação às amostras com coagulante policloreto de alumínio, observa-se um aumento quanto ao alumínio (Al) e ferro (Fe) totais, em comparação com a amostra que utilizou cloreto férrico, com exceção da amostra LFA-CF, onde se notou um acréscimo nas concentrações pós-extração (Tabela 5). Este comportamento também pode estar acontecendo devido à constituição da parede celular das microalgas serem compostos por grupos funcionais ligados a polissacarídeos e proteínas, que atuam como sequestrantes dos metais utilizados na floculação através do processo de biossorção (PITRE; BOULLEMANT; FORTIN, 2014). Além disso, o processo de biossorção pode ser influenciado por fatores físico-químicos como: pH, presença de outros ânions e cátions, solubilidade de poluentes e temperatura (GADD, 2008). Dessa forma, acredita-se que o processo de floculação alterou alguns desses fatores físico-químicos, potencializando, ou não, a biossorção.

Romera et al (2007) estudaram a comparação da biossorção de metais pesados (cádmio, níquel, zinco, cobre e chumbo) utilizando 6 algas diferentes (verdes, vermelho e marrom). Os testes demonstraram que os fatores físico-químicos e a concentração da biomassa foram fundamentais para o processo de biossorção. O pH 6 foi o ideal para a recuperação de Cd, Ni e Zn e abaixo de 5 para Cu e Pb. Já em relação à concentração da biomassa, os melhores resultados foram obtidos com a menor concentração (0,5 g / L).

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. Vale salientar que 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. 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.

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

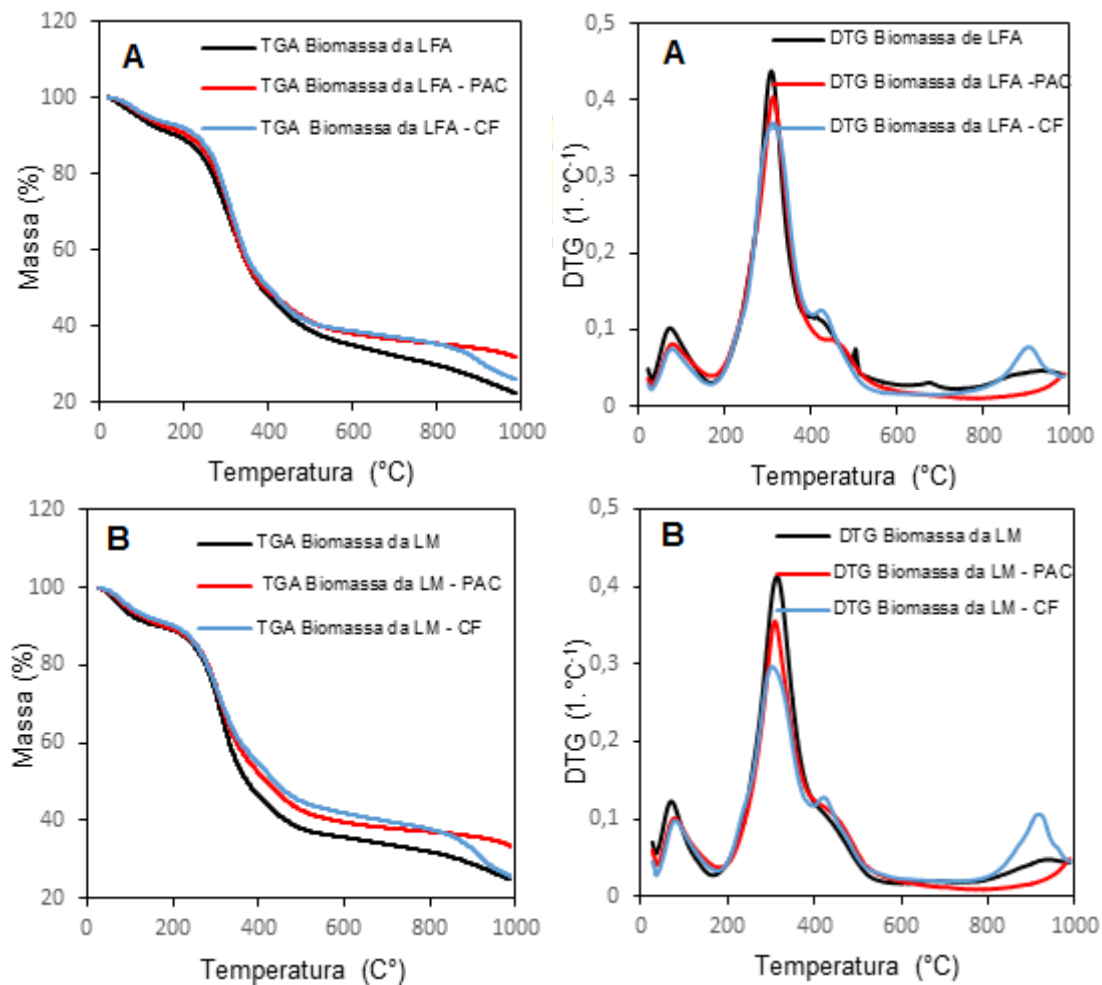
O comportamento térmico das biomassas microalgas da LFA, LFA-CF, LM e LM-CF apresentaram quatro eventos térmicos e a LFA-PAC e LM-PAC três eventos (Figura 9). O primeiro evento corresponde à desidratação da biomassa e o segundo evento à presença de carboidratos e proteínas. A presença de proteína na 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.,2014).

Figura 9 – 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 6 são mostrados os resultados dos principais eventos térmicos da biomassa e suas respectivas porcentagens de perda de massa.

Tabela 6 – Eventos térmicos das amostras das biomassas secas

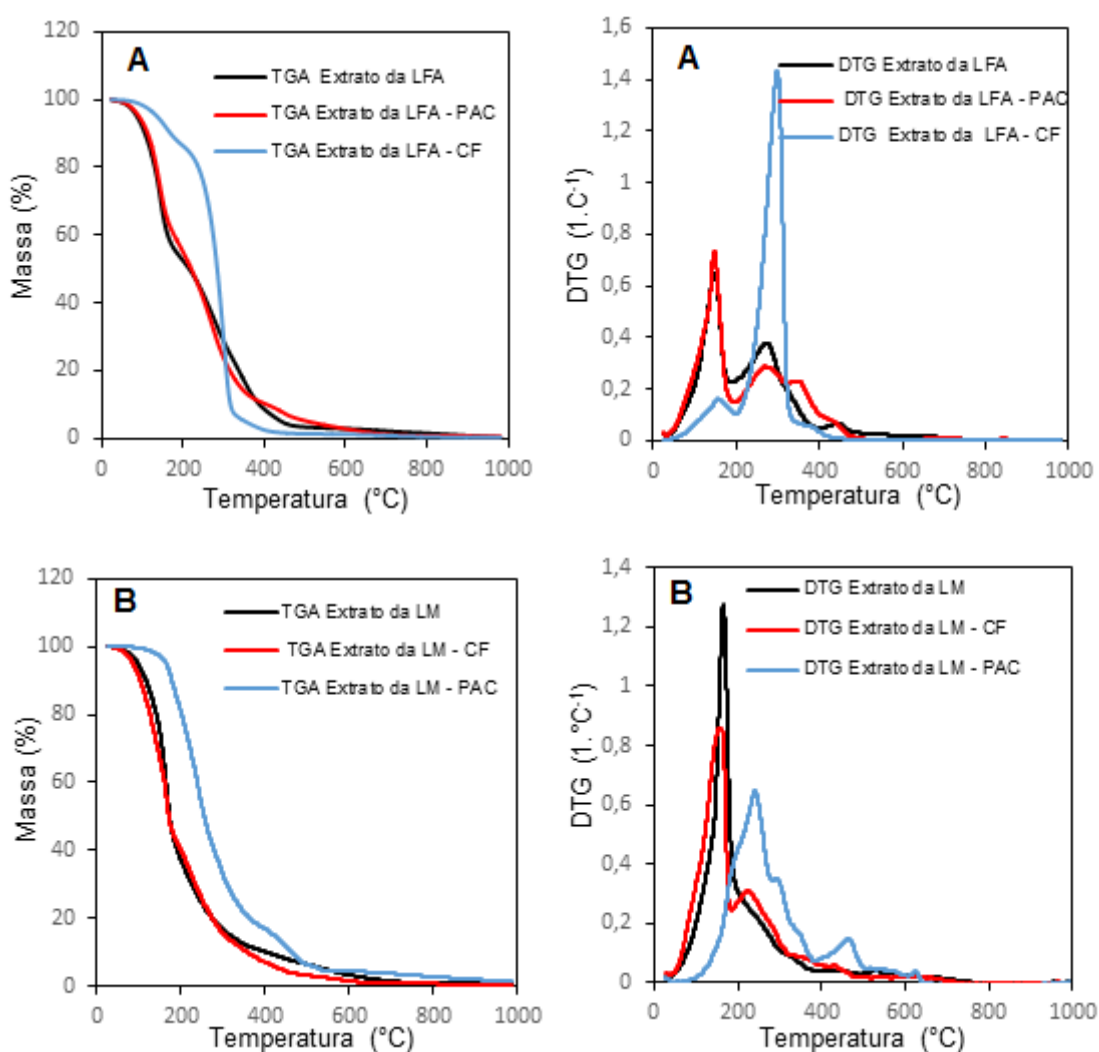
Amostras	Eventos térmicos	Temperatura	Massa (%)
LFA	1°	27 - 174	9,59
	2°	174 - 396	41,75
	3°	396 - 559	13,32
	4°	559 - 988	13,23
Resíduos (%)	22,11		
LFA - CF	1°	28 - 170	6,99
	2°	170 - 395	43,34
	3°	395 - 596	12,16
	4°	596 - 988	11,70
Resíduos (%)	25,91		
LFA -PAC	1°	24 - 184	8,44
	2°	184 - 400	45,58
	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).

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

As curvas TG e DTG (Figura 10) 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.,2014).

Figura 10 – 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).



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 7), 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 7 são mostrados os resultados dos intervalos de temperatura dos principais eventos térmicos dos extratos e suas respectivas porcentagens de perda de massa.

Tabela 7 – Eventos térmicos das amostras dos extratos das biomassas secas

Amostras	Eventos térmicos	Temperatura	Massa (%)	Temperatura máxima de degradação (°C)
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).

4 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: *Monoraphidium sp.*, *Synechocystis sp.* e *Chlorella sp.*, que de acordo com a literatura são ótimas produtoras de ácidos graxos saturados e poli-insaturados.

Após a extração, foi verificado que o melhor rendimento de material lipídico obtido das microalgas foi observado nas amostras da lagoa facultativa aerada, cujo a biomassa foi removida por flotação.

Os processos de centrifugação e flotação por ar dissolvidos foram satisfatórios para a remoção da biomassa das lagoas de estabilização em escala laboratorial. Contudo, 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 e a análise cromatografia em camada delgada a presença de éster, ácidos graxos e triglicerídeos nos extratos dos materiais lipídicos obtidos da biomassa da lagoa facultativa aerada e de maturação.

A análise termogravimétrica da biomassa desidratada evidenciou a presença de carboidrato, proteínas e lipídeos e no extrato do material lipídico obtido da biomassa 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.

EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF STABILIZATION LAGOON MICROWAVE OIL

ABSTRACT

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 and ferric chloride coagulants. In order to extract the lipid material from the biomass, it is necessary to use a mechanical absorption mechanism associated with a n-hexane 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, *Synechocystis* sp and *Chlorella* sp. The best yield lipid material content was verified in the sample originated from the facultative pond with coagulant polychloride aluminum (5.18%). 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.

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.

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.

BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A.(Ed.). **Handbook of microalgal cultures biotechnology and applied phycology**, 2004.p.312 – 351.

BRASIL. Balanço Energético Nacional - 2016. Relatório Síntese. Ano base 2015. Rio de Janeiro. Empresa de Pesquisa Energética – EPE, p.292. 2016.

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.

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.

GADD, G, M. Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment **J Chem Technol Biotechnol**, v.84 p.13 – 28, 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.

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.

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.

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.

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. **Thermochimica Acta**, v.484, p.41 – 47, 2009.

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. Flocculação 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.

PITRE, D.; BOULLEMANT, A.; FORTIN, C. Uptake and sorption of aluminium and fluoride by four green algal species. **Chemistry central journal**, v.8, p.1–8, 2014.

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.

ROMERA, E; GONZÁLEZ, F; BALLESTER, A; BLÁZQUEZ, M.L; MUÑOZ, J.A. Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3344–3353, 2007.

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

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.

VEIT, M, T; SILVA, E, A; FAGUNDES-KLEN, M, R; TAVARES, C, R, G; GONÇALVES, G, C. Biossorção de níquel e cromo de um efluente de galvanoplastia utilizando alga marinha pré- utilizando alga marinha pré - tratada em coluna tratada em coluna. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 31, n.2, p.175-183, 2009.

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.

