

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOENERGIA**

**CARACTERIZAÇÃO DE MATÉRIA-PRIMA GRAXA DE
LODO DE ESGOTO DOMÉSTICO VISANDO À SÍNTESE
DE ÉSTERES**

GRACE ANNE VIEIRA MAGALHÃES GHIOTTO

**Dissertação de Mestrado
submetida à Universidade
Estadual de Maringá como
parte integrante do
requisito para obtenção do
Grau de Mestre em
Bioenergia, área de
concentração
Biocombustíveis.**

Maringá, Agosto de 2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOENERGIA

CARACTERIZAÇÃO DE MATÉRIA-PRIMA GRAXA DE LODO DE ESGOTO DOMÉSTICO VISANDO À SÍNTESE DE ÉSTERES

Grace Anne Vieira Magalhães Ghiotto.

Bióloga, UNICESUMAR, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Augusto Arroyo.

Dissertação de Mestrado submetida à
Universidade Estadual de Maringá como
parte integrante do requisito para
obtenção do Grau de Mestre em
Bioenergia, área de Desenvolvimento de
Processos.

Maringá – PR – Brasil

Agosto de 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

G424c Ghiotto, Grace Anne Vieira Magalhães
Caracterização de matéria-prima graxa de lodo de
esgoto doméstico visando à síntese de ésteres /
Grace Anne Vieira Magalhães Ghiotto. -- Maringá,
2017.
106 f. + anexos : il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Augusto Arroyo.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Tecnologia, Departamento de
Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em
Bioenergia, 2017.

1. Escuma de esgoto. 2. Lodo de esgoto doméstico.
3. Transesterificação. 4. Lipídios - Análise. 5.
Lipídios - Extração. 6. Resíduos - Aproveitamento.
I. Arroyo, Pedro Augusto, orient. II. Universidade
Estadual de Maringá. Centro de Tecnologia.
Departamento de Engenharia Química. Programa de Pós-
Graduação em Bioenergia. III. Título.

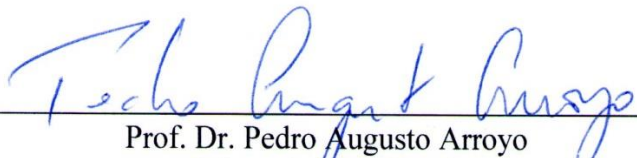
CDD 21.ed.628.39

Elaine Cristina Soares Lira CRB 1202/9

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOENERGIA

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por **Grace Anne Vieira Magalhães Ghiotto** perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Bioenergia em 31 de agosto de 2017.

COMISSÃO JULGADORA



Prof. Dr. Pedro Augusto Arroyo
Orientador/Presidente



Prof. Dr. Nehemias Curvelo Pereira
Membro



Prof.^a Dr.^a Célia Regina Granhen Tavares
Membro

MAGALHÃES GHIOTTO, GRACE ANNE VIEIRA

Caracterização de matéria-prima graxa de lodo de esgoto doméstico para a síntese de ésteres, [Paraná] 2017.

108 p., 29,7 cm (PEQ/UEM, D. Sc., Bioenergia, 2017)

Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Maringá – DEQ

1 – Biodiesel

2 – Escuma de esgoto

3 – Transesterificação *in situ*

4 – Caracterização de matéria graxa

I. DEQ / UEM

II. Título (série)

À Deus toda minha gratidão por ter me sustentado, capacitado e permitido que chegasse até aqui.

À minha família, em especial, aos meus filhos por entenderem minha ausência, e ao meu marido, Bruno, por todo o amor, incentivo e apoio em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter me sustentado e capacitado. Obrigada Senhor por todas as maravilhas que meus olhos puderam ver, por tudo que minhas mãos puderam fazer e por todas as bênçãos em meu caminho.

Ao Professor Pedro Augusto Arroyo pela confiança, orientação, amizade e oportunidade de realizar este trabalho e todo conhecimento a mim transmitido.

Ao meu marido, Bruno, por todo o amor, incentivo e apoio. Obrigada por me pegar pelas mãos e me fazer seguir em frente. Obrigada pelos lanches e obrigada por me manter positiva.

Aos meus familiares e amigos que estiveram sempre torcendo por mim e que com toda a paciência, entenderam minha reclusão social e com todo o humor, faziam graça com meu projeto, deixando-o mais divertido.

Aos colegas do Laboratório de Catálise Heterogênea e Biocombustíveis (LCHBio) pela amizade, companhia, ajuda e auxílio nesta pesquisa. Agradecimento especial à Elias e Silvio, por, com muita paciência, terem me ensinado e ajudado na maior parte da trajetória. Sem vocês, com certeza eu não teria conseguido. Kemely, Elciane, Camila, Júlia, Paulo, Everton, Celso e Gláucio, obrigada pelos tantos momentos que puderam compartilhar comigo. Amigos que conquistei durante toda esta caminhada, meu carinhoso muito obrigada!

Ao professor Benício de Abreu Filho, por ter me auxiliado nas análises microbiológicas e disponibilizado seu laboratório para tal fim.

Ao departamento de Engenharia Química da UEM, que me ofereceu toda a estrutura necessária para a realização deste trabalho, bem como os funcionários do DEQ pelos diversos auxílios e informações.

À Capes pelo suporte financeiro.

*“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor,
mas lutamos para que o melhor fosse feito.
Não somos o que deveríamos ser.
Não somos o que iremos ser,
mas, Graças à Deus,
não somos o que éramos antes.”
Martin Luther King*

CARACTERIZAÇÃO DE MATÉRIA-PRIMA GRAXA DE LODO DE ESGOTO DOMÉSTICO VISANDO À SÍNTESE DE ÉSTERES

Autora: Grace Anne Vieira Magalhães Ghiotto

Orientador: Prof. Dr. Pedro Augusto Arroyo (DEQ/UEM)

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Bionergia; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, Bloco E-46, Sala 09; CEP 87020-900 – Maringá-PR-Brasil, defendida em 31 de agosto de 2017.

RESUMO

Os resíduos sólidos provenientes do tratamento de esgoto urbano, tais como o lodo, retirado dos leitos de secagens que recebem descarga de reatores biológicos, são produtos que precisam de tratamento específico, sendo considerados grandes poluidores ambientais, com geração de custos adicionais à uma unidade de tratamento de esgoto. Buscando a sustentabilidade de uma ETE (Estação de tratamento de esgoto), estes resíduos podem ser avaliados sob a ótica da revalorização e, considerando a alta concentração de lipídios presentes em sua composição, é possível buscar um reaproveitamento energético, como, por exemplo, a aplicação na produção de Biocombustíveis, mais especificamente biodiesel, visto, ser esta, uma biomassa à disposição gratuitamente, necessitando de destinação adequada e constituindo uma fonte alternativa de ésteres sem impactos ambientais e de alto valor energético. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi caracterizar e avaliar a produção de ésteres via transesterificação *in situ* utilizando o lodo de esgoto doméstico como matéria-prima.

O lodo de esgoto coletado apresentou 61 % de matéria orgânica e 39 % de sólidos fixos.

A caracterização da matéria-prima graxa contida no lodo de esgoto foi realizada após extração de lipídios pelo método Soxhlet e se mostrou adequada para a produção de ésteres metílicos visando à produção de biodiesel, sendo constituída por 26 % de sua massa em lipídios neutros, de baixo índice de material insaponificável e grande valor de saponificáveis, 4,68 % e 22,11 % respectivamente. Além disso, esta matéria graxa possui 40,4 %, 44,61 % e 69,45 % de acidez representada em ácido palmítico, ácido graxo este, identificado como mais abundante na amostra, nos métodos de extrações por hexano 25° C, Soxhlet e Bligh e Dyer, respectivamente, demonstrando que a metodologia de extração está diretamente relacionada aos ácidos graxos obtidos e consequentemente, ao índice de acidez, indicando como necessária para a produção de ésteres, a adoção de via catalítica ácida. O índice de umidade obtido da matéria graxa foi de $0,2636 \pm 0,0024$ e se mostrou adequado para a realização de transesterificação *in situ*. A análise de peróxidos indicou que a matéria graxa extraída do lodo de esgoto apresentou notável grau de oxidação e degradação, sendo encontrado 1415,15 mEq de peróxidos por kg de amostra.

A obtenção dos ésteres foi realizada por reação *in situ*, visando à promoção simultânea da extração e conversão dos ácidos graxos, com álcool metílico e adição de 4 % de

H₂SO₄ como catalisador em relação ao volume total do reator. A reação foi conduzida a 55 °C pelo período de 6 horas.

Embora o lodo coletado na ETE apresente considerável grau de degradação, com oxidação indicada pelo valor de índice de peróxido, e, o índice de acidez apresente valores igualmente elevados, a utilização do lodo de esgoto para a produção de ésteres visando à produção de biodiesel se torna relevante, uma vez que as reações de transesterificações *in situ* apresentaram perfil graxo de qualidade, constituídos por ésteres, em sua maioria, C16:0, C18:1 e C18:2, na qual foi obtido um rendimento aproximado de 57 % em ésteres metílicos de ácidos graxos, podendo ser considerada a inserção da matéria graxa extraída do lodo de esgoto em arranjos locais de produção de biodiesel.

RAW MATERIAL'S CHARACTERIZATION OF DOMESTIC SEWAGE VISUALIZING THE SYNTHESIS OF ESTERS

Author: Grace Anne Vieira Magalhães Ghiotto

Supervisor: Prof. Dr. Pedro Augusto Arroyo (DEQ/UEM)

Masters thesis defense; Bioenergy Graduate Program; State University of Maringá; Colombo Av., 5790, E-46-09; ZIP 87020-900 – Maringá-PR-Brazil, supported on August 31th, 2017.

ABSTRACT

The solid waste from urban sewage treatment, such as the sludge that are removed from the drying beds and discharged of biological reactors, are products that need specific treatment, being considered great environmental polluters, generating additional costs to a unit of sewage treatment. Seeking the sustainability of an ETE (Sewage Treatment Plant), these residues can be evaluated from the standpoint of revaluation and, considering the high concentration of lipids that are present in its composition, it's possible to seek for an energetic reutilization, as for example, the application in the production of biofuels, more specifically biodiesel, since it is a biomass available for free, needing adequate destination of disposal and constituting an alternative source of esters without environmental impacts and a high energy value. Thus, the objective of this study was to characterize and evaluate the production of esters by *in situ* transesterification utilizing the domestic sewage sludge as raw material.

The collected sewage sludge presented 61 % of organic matter and 39 % of fixed solids. The characterization of the raw material contained in the sewage sludge was carried out after the extraction of lipids by the Soxhlet method, which proved to be suitable to produce methyl esters to produce biodiesel, being constituted by 26 % of its mass in neutral lipids, low content of unsaponifiable material and high value of saponifiable, 4.68 % and 22.1 %, respectively. In addition, the fatty matter has 40.4 %, 44.61 % and 69.45 % of acidity represented in palmitic acid, fatty acid, identified as most abundant in the sample, in the hexane extraction methods 25 ° C, Soxhlet and Bligh e Dyer, respectively, demonstrating that the extraction methodology is directly related to the fatty acids obtained and, consequently, to the acidity index, indicating as necessary for the production of esters, the adoption of acid catalytic pathway. The moisture content obtained from the grease material was $0,2636 \pm 0,0024$ proving to be adequate for *in situ* transesterification. The peroxide analysis indicated that the grease material extracted from the sewage sludge presented a remarkable degree of oxidation and degradation, with 1215.14 mEq of peroxides per kg of sample found. The esters were obtained by *in situ* reacting, aiming at the simultaneous promotion of the extraction and fatty acids' conversion, with methyl alcohol and the addition of 4 % of H₂SO₄ as catalyst in relation to the total volume of the reactor. The reaction was conducted at 55 ° C for a period of 6 hours.

Although the sludge collected in the ETE presents a considerable degree of degradation, with oxidation indicated by the peroxide value, and the acid value is equally high, the use of sewage sludge to produce esters for the biodiesel production makes it relevant,

since the *in situ* transesterification reactions presented a quality fatty profile, consisting mainly of esters, C16:0, C18:1 and C18:2, in which an approximate yield of 57 % was obtained in esters methyl fatty acids, and the insertion of the grease material extracted from the sewage sludge into local biodiesel production arrangements can be considered.

ÍNDICE

CAPÍTULO I	
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO II	
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
II.1 Biodiesel	5
II.2 Matérias-primas	8
II.3 Lodo de Esgoto como Fonte de Matéria-prima Alternativa para Produção de Biodiesel	11
II.3.1 Composição do Lodo de Esgoto	13
II.3.2 Preparação e Processos de desinfecção do Lodo de Esgoto	16
II.3.2.1 Ultrassom	17
II.3.2.2 Radiação Ultra-Violeta	18
II.3.2.3 Tratamento Térmico	18
II.3.3 Parâmetros de Estabilização do Lodo de Esgoto Após Desinfecção	19
II.3.3.1 Análise Microbiológica	19
II.3.3.2 Análises de Sólidos Totais, Fixos e Voláteis	20
II.3.4 Caracterização dos Lipídios Presentes no Lodo de Esgoto	20
II.3.4.1 Índice de Acidez	20
II.3.4.2 Índice de Saponificação	21
II.3.4.3 Matéria Insaponificável	22
II.3.4.4 Índice de Peróxidos	22
II.3.4.5 Umidade	23
II.4 Síntese de Ésteres	24
II.4.1 Transesterificação <i>in situ</i>	26
II.5 Conclusões sobre a Revisão Bibliográfica	29
CAPÍTULO III	
MATERIAIS E MÉTODOS	31
III.1 Coleta e Preparação do Lodo	31
III.1.1 Ultrassom	32
III.1.2 Irradiação por Luz Ultravioleta	32
III.1.3 Secagem Térmica	32
III.2 Caracterização do Lodo de Esgoto e Parâmetros de Estabilização	33
III.2.1 Análise Microbiológica após Desinfecção	33

III.2.2 Análise de Sólidos Suspensos Totais	33
III.2.3 Análise de Sólidos Suspensos Fixos e Voláteis	34
III.3 Extração e Purificação do Extrato Lipídico de Lodo de Esgoto	35
III.3.1 Extração com Hexano	35
III.3.2 Extração por Bligh e Dyer	36
III.3.3 Extração por Soxhlet	37
III.3.4 Lavagem e Filtração do Extrato Lipídico de Lodo de Esgoto	37
III.4 Caracterização do Extrato Lipídico	38
III.4.1 Determinação do Índice de Acidez e Teor de Ácidos Graxos Livres	38
III.4.2 Teor de Umidade	40
III.4.3 Determinação do Índice de Saponificação	40
III.4.4 Determinação de Matéria Insaponificável	41
III.4.5 Determinação do Índice de Peróxido	43
III.4.6 Determinação da composição em ácidos graxos dos lipídios extraídos do lodo de esgoto	44
III.5 Produção de ésteres	45
III.5.1 Transesterificação <i>in situ</i>	46
III.5.2 Identificação e quantificação dos ésteres obtidos	46
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
IV.1 Caracterização do Lodo de Esgoto e Parâmetros de Estabilização	49
IV.1.1 Análise microbiológica do lodo de esgoto após desinfecção	50
IV.1.2 Análise de Sólidos	50
IV.2 Extração e Purificação do Extrato Lipídico de Lodo de Esgoto	51
IV.3 Caracterização do Extrato Lipídico Extraído do Lodo de Esgoto	56
IV.3.1 Determinação do Índice de Acidez e Teor de Ácidos Graxos Livres	56
IV.3.2 Teor de Umidade	58
IV.3.3 Determinação do Índice de Saponificação	59
IV.3.4 Determinação de Matéria Insaponificável	61
IV.3.5 Índice de Peróxido	63
IV.3.6 Determinação da Composição em Ácidos Graxos dos Lipídios Extraídos do Lodo de Esgoto	64
IV.4 Transesterificação <i>in situ</i>	68
IV.4.1 Composição em ésteres metílicos produzidos na reação <i>in situ</i>	71
CAPÍTULO V	
CONCLUSÕES	73

CAPÍTULO VI
REFERÊNCIAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura II. 1 -	A Evolução do Biodiesel no Brasil.....	7
Figura II. 2 -	Produção Mundial de Biodiesel.....	8
Figura II. 3 -	Perfil nacional de matérias-primas consumidas para produção de biodiesel.....	10
Figura II. 4 -	As principais classes de lipídios de armazenamento e de membrana.....	14
Figura II. 5 -	Perfil de ácidos graxos extraídos do lodo de esgoto de tratamento primário e secundário.....	15
Figura II.6 -	Comparação entre a transesterificação convencional e a transesterificação <i>in situ</i>	26
Figura IV.1 -	Material após secagem e homogeneização / maceração.....	49
Figura IV.2 -	Filtragem da solução para análise de sólidos e torta após filtragem.....	51
Figura IV.3 -	Extração de lipídios com hexano – 25°C – separação da camada lipídica – extrato lipídico.....	51
Figura IV.4 -	Extração de lipídios de lodo de esgoto seco pelo método adaptado de Bligh e Dyer.....	52
Figura IV.5 -	Extração de lipídios de lodo de esgoto seco pelo método Soxhlet, 1878.....	53
Figura IV.6 -	Coluna recheada com carvão de osso utilizada na purificação da matéria graxa extraída do lodo de esgoto doméstico.....	55
Figura IV.7 -	Etapas de análise de matéria insaponificável.....	61
Figura IV.8 -	Processo de análise de índice de peróxidos.....	63
Figura IV.9 -	Rendimento em ésteres metílicos obtido na reação <i>in situ</i> em função do tempo, utilizando o solvente hexano.....	70
Figura IV.10 -	Composição em ácidos graxos dos ésteres metílicos produzidos a partir de lipídios de lodo de esgoto doméstico.....	71

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela IV.1	Resultados de ensaios das metodologias das extrações.....	54
Tabela IV.2	Resultados das purificações das extrações.....	55
Tabela IV.3	Índice de acidez da matéria graxa por extração com hexano 25°C	56
Tabela IV.4	Índice de acidez da matéria graxa por extração por Bligh e Dyer	57
Tabela IV.5	Índice de acidez da matéria graxa por extração por Soxhlet ..	57
Tabela IV.6	Teor da umidade na matéria graxa extraída e purificada de lodo de esgoto doméstico	59
Tabela IV.7	Resultados de análises de índice de saponificação	60
Tabela IV.8	Resultados de análises de índice de matéria insaponificável ..	62
Tabela IV.9	Resultados de análises de índice de peróxidos	63
Tabela IV.10	Composição em ácidos graxos da matéria graxa extraída do lodo de esgoto doméstico da ETE – Mandacaru pelo método hexano 25°C	65
Tabela IV.11	Composição em ácidos graxos da matéria graxa extraída do lodo de esgoto doméstico da ETE – Mandacaru pelo método Bligh e Dyer	66
Tabela IV.12	Composição em ácidos graxos de matéria graxa extraída do lodo de esgoto doméstico da ETE – Mandacaru pelo método Soxhlet	67
Tabela IV.13	Rendimento da conversão em ésteres metílicos do conteúdo lipídico do lodo de esgoto doméstico via transesterificação <i>in situ</i>	69

NOMENCLATURA

$\Sigma MM\ a.g.$	Soma da massa molar de cada ácido graxo livre, multiplicado pela porcentagem de ácido graxo determinado pela derivatização
$A_{éster}$	Área no cromatograma relativa ao éster x na amostra analisada
AGL	Ácidos Graxos Livres
ANP	Agência Nacional do Petróleo
A_T	Área no cromatograma relativa a soma de todas as áreas identificadas
CEPLAC	Comissão Executiva do Plano de Lavoura Cacaueira
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
f	Fator de correção da solução de NaOH
FAME	Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos
FCT	Fator de correção teórico
GEE	Gases de efeito estufa
INT	Instituto Nacional de Tecnologia
IP	Índice de Peróxido
IPT	Instituto de Pesquisa Tecnológica
M	Molaridade da solução de hidróxido de sódio (mol/L)
M_0	Massa (g) da porção de teste
M_1	Massa (g) do resíduo obtido da reação
M_2	Massa (g) do resíduo obtido no branco
M_3	Massa (g) do ácido graxo quando houver e igual a 0,28
Meq	Miliequivalência
$M_{éster}$	Massa do éster identificado
$MM\ gliceryl$	Massa molar do glicerol
$MM\ H_2O$	Massa molar da água
MMo	Massa Molar do Óleo ou matéria graxa
M_p	Massa do padrão interno (mg)
N	Normalidade da Solução
NBR	Norma Brasileira Aprovada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas
P	Massa da amostra (g)

<i>PI</i>	Padrão interno
<i>PNPB</i>	Programa Nacional do Biodiesel
<i>RALF</i>	Reator Aeróbio de Leito Fluidizado
<i>SABESP</i>	Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
<i>SSF</i>	Sólidos Suspensos Fixos
<i>SST</i>	Sólidos Suspensos Totais
<i>SSV</i>	Sólidos Suspensos Voláteis
<i>UASB</i>	Upflow Anaerobic Sludge Blanket, ou Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente
v_a	Volume da solução de tiosulfato gasto na titulação da amostra
v_b	Volume (mL) da solução de tiosulfato gasto na titulação do branco

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

A partir da década de 1990, conferências e protocolos ambientais tem despertado atenção à causas relacionadas ao aquecimento global e efeito estufa, estabelecendo planejamentos estratégicos para a redução da emissão de gases poluentes e o emprego de opções mais sustentáveis de energia. A moderação no uso de energia proveniente de combustíveis fósseis foi a abordagem utilizada na Conferência do Clima – COP 21, em que 195 países ratificaram um acordo estabelecendo metas para que o aquecimento global não exceda 2° C até o ano de 2100, concentrando as ações em esforços para reduzir as emissões de carbono. Uma das medidas adotadas foi o emprego da utilização de combustíveis menos poluentes (LEITE e LEAL, 2007; ESCOBAR *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2013; COP 21, 2015).

O biodiesel é um biocombustível menos poluente, biodegradável e sustentável. A sua produção proporciona o fortalecimento da balança comercial do estado, promovendo o desenvolvimento de regiões rurais e a geração de independência energética. Podem ser utilizados nos motores atuais, sem a necessidade de alteração na mecânica, além de possuírem propriedades lubrificantes. Possuem facilidade na manipulação e armazenamento, devido à simplicidade de uso e baixo ponto de inflamação (ZIVKOEV *et al.*, 2017).

A primeira crise do petróleo, na década de 1970, trouxe consigo a importância do desenvolvimento combustíveis independentes do petróleo. Como consequência desta política no Brasil, a primeira patente de biodiesel foi depositada em 1980. Em 2004, foi fundado o Programa Nacional de Produção de Biodiesel, sendo, então, a partir de 2008, implementada a adição obrigatória de 2% de biodiesel no diesel comercializado, por determinação da lei 11.097/2005, aumentando, portanto, a produção de biodiesel no país. A partir de 2017 a adição obrigatória foi de 8% (LIMA, 2005; ANP, 2017).

Atualmente no Brasil, a produção de biodiesel está consolidada a partir da soja, cultura que proveu setenta e cinco por cento da matéria-prima para produção de biodiesel no Brasil, em 2016. A soja é uma matéria-prima que obteve emprego de tecnologia e pesquisa, sendo garantido à ela, resistência a variações climáticas e de temperatura, favorecendo a sua produção em larga escala (LIMA, 2005). Porém, este produto tem importância considerável no mercado internacional, sendo grande influenciadora do PIB nacional, tornando o valor desta *commodity* (da soja), prioritária nas exportações e comprometendo o valor comercial para emprego na produção competitiva do biodiesel (LIMA, 2005).

A ampliação da produção de Biodiesel demanda descoberta de fontes alternativas, com esforços futuros para matérias-primas e tecnologias de produção de baixo custo, menor impacto ambiental e baixo consumo de energia de produção. Neste contexto, destacam-se as fontes não comestíveis e ambientalmente sustentáveis de matérias-primas, abrangendo baixo impacto direto ou indireto no ar, solo e água (ZIVKOVIC *et al.*, 2017).

Ao final do processo de tratamento do esgoto que chega à ETE (Estação de tratamento de esgoto), resíduos sólidos resultantes do processo, como, por exemplo, a espuma e o lodo, são gerados. Devido à alta carga de microrganismos, somado à grande concentração de compostos eutrofisantes e à ampla demanda bioquímica de oxigênio (DBO), o lodo de esgoto é classificado como poluidor ambiental. Dessa forma, há a necessidade de tratamento e destinação adequados, realizados por empresas especializadas, responsável por 60% dos gastos com manutenção da ETE (FYTILI e ZABANIOTOU, 2008; SIDDIQUEE e ROHANI, 2011).

Segundo a literatura, autores relatam que a matéria graxa extraída da espuma e lodo de esgoto, caracteriza-se pela alta viscosidade, alto índice de acidez e cor escura, propriedades comuns em gorduras saturadas e com alto grau de oxidação (GERHARD *et al.*, 2015). Devido à quantidade significativa de lipídios (podendo chegar a 30% em massa) contidos neste material, a sua utilização como fonte alternativa para a produção de Biodiesel vem sendo considerada (POKOO-AIKINS *et al.*, 2010). Assim, a caracterização da matéria-prima graxa extraída do lodo de esgoto é de grande importância, uma vez que esta se faz necessária para a determinação da via catalítica adequada para a composição presente, bem como o estabelecimento das condições da reação (SIDDIQUEE e ROHANI, 2011).

Dentre as rotas reacionais existentes, a transesterificação *in situ* consiste em eliminar a etapa de obtenção e purificação do óleo, realizando a reação diretamente da biomassa, simplificando o processo de produção de biodiesel. Isto permite que a extração do óleo ou da matéria graxa e a reação de transesterificação ocorram em uma única etapa (MONDALA *et al.*, 2009).

Neste contexto, cabe ressaltar que os trabalhos disponíveis na literatura estudam o potencial de implementação da espuma e lodo de esgoto como fonte de matéria-prima para produção de biodiesel, nos quais são avaliadas principalmente as características da matéria-prima, tais como teor de acidez, umidade, índice de saponificação, quantidade de matéria não saponificável, quantidade de lipídios disponíveis, melhor método de extração dos lipídios neutros, composição em ácidos graxos. Também, é estudada a influência da composição para a definição da rota reacional para um melhor rendimento em ésteres e da razão molar lodo:solvente:catalisador, dentre outras. Os resultados obtidos indicam que a transesterificação *in situ* possui um grande potencial para a produção de ésteres a partir da biomassa de resíduo de esgoto urbano (REVELLAME *et al.*, 2009; MONDALA *et al.*, 2009; POKOO-AIKINS *et al.*, 2010; SIDDIQUEE *et al.*, 2011; KWON *et al.*, 2012; PASTORE *et al.*, 2013; GIRISHA *et al.*, 2014; OLKIEWICZ *et al.*, 2015; GERHARD *et al.*, 2015).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar e avaliar a produção de ésteres via transesterificação *in situ*, utilizando o lodo de esgoto doméstico coletado na Estação de Tratamento de Esgoto da Sanepar – Unidade Mandacarú, como matéria-prima.

Para atingir o objetivo principal, os seguintes objetivos específicos foram desenvolvidos:

- a) Realização da desinfecção do lodo de esgoto doméstico, para manipulação com segurança e análise de sólidos;
- b) Caracterização microbiológica e de sólidos (totais, fixos e voláteis) do lodo de esgoto coletado no leito de secagem;
- c) Determinação do melhor método de extração de matéria graxa do lodo de esgoto, a partir da determinação do rendimento em produto extraído e da purificação da matéria graxa do lodo de esgoto captado em leito de secagem;

- d) Caracterização do extrato lipídico extraído do lodo de esgoto seco por análises de índice de acidez e ácidos graxos livres, e do extrato lipídico purificado por teor de umidade, determinação do índice de saponificação na amostra, matéria insaponificável, índice de peróxido e composição em ácidos graxos;
- e) Síntese de ésteres por transesterificação *in situ* do lodo de esgoto;

CAPÍTULO II

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1 Biodiesel

Biodieseis são derivados de biomassa, produzido a partir de óleos vegetais, animais ou de gorduras residuais, podendo substituir, parcial ou totalmente, os combustíveis derivados de petróleo e gás natural em motores de combustão ou em outro tipo de geração de energia, devendo se enquadrar nas especificações estabelecidas pela Resolução ANP nº 7/2008 (ANP, 2017).

O Biodiesel é um biocombustível biodegradável, produzido a partir de fontes renováveis, e seu uso emite baixas quantidades de gases de efeito estufa (GEE), tendo contribuição reduzida no aumento do aquecimento global (SINGH E SINGH, 2010). Segundo a ASTM (American Society of Testing and Materials), biodiesel é um composto de ésteres alquílicos de ácidos graxos de cadeia longa derivados de vegetais. Podem ser produzidos por hidro - processamento de lipídios, craqueamento térmico, gaseificação, esterificação, ou ainda por transesterificação, sendo esta, a tecnologia mais utilizada atualmente (ZIVKOVIC *et al.*, 2017).

Sua cadeia de produção e utilização beneficiam vários setores, como, por exemplo, nos setores econômicos, sociais e políticos, com atuação ativa na segurança energética nacional decorrente da independência energética e fortalecimento da balança comercial, além de promover o desenvolvimento das regiões rurais, favorecendo o fortalecimento da agricultura familiar. Tecnicamente, possui facilidade de uso, segurança de manipulação e armazenamento, devido, principalmente, ao alto ponto de inflamação. Ademais, possui propriedades compatíveis ao diesel de petróleo, não

havendo necessidade da adaptação de motores para sua utilização. Ambientalmente, são combustíveis sustentáveis, biodegradáveis e não tóxicos, com importante redução de impactos ambientais no solo, água e ar, desde sua produção, até o uso final, tornando-o também, mais seguro, em caso de acidentes ambientais, além de serem considerados baixos emissores de GEE's (ZIVKOVIC *et al.*, 2017), estando assim, dentro das metas de redução de gases NO_x e CO₂, como acordado da COP 21.

A dependência do petróleo trouxe um alerta à economia de muitos países, considerando temas como as reservas esgotantes de combustível fóssil, o aumento das demandas de diesel e a incerteza em sua disponibilidade, sendo considerados os principais motivos acionadores de iniciativas em busca de fontes alternativas de combustível (SINGH e SINGH, 2010). Acrescido à problemática econômica, o aquecimento global, agravado pela emissão de GEE, causados também pela queima de combustíveis fósseis, fez com que vários países buscassem alternativas ao uso de petróleo, a partir de 1970, favorecendo o desenvolvimento de energias renováveis e outras fontes de energias, como a nuclear, gás natural e carvão mineral (LEITE e LEAL, 2006).

Nesta década, ainda em relação à preocupação ambiental, surgiu a obrigatoriedade da adição de compostos oxigenados à gasolina, com o objetivo de reduzir a emissão de monóxido de carbono e outros gases poluentes. Iniciada na década de 1980, a produção de energias alternativas foi desestimulada pela queda no preço do petróleo, porém, o apelo ambiental não impediu a descontinuidade desta produção. A partir de 1990, países desenvolvidos organizaram as primeiras convenções e protocolos relacionados ao ambiente, com foco na redução de emissões de GEE. Desde então, o preço do petróleo sofreu quedas e altas, principalmente, após a convicção de que a extração do petróleo está se aproximando de seu limite, caso não sejam descobertas novas fontes (LEITE e LEAL, 2006).

O Biodiesel no Brasil surgiu fortemente a partir de 1980, motivado pela redução do consumo de combustíveis de origem fóssil, causada pela crise mundial do petróleo, em 1973 e 1978, tendo a intenção de suprir a demanda nacional e incentivado pela criação do programa Proálcool. Porém, desde a década de 20 o Instituto Nacional de Tecnologia (INT) já testava combustíveis alternativos e renováveis. Neste contexto, em 1970, surgiu o DENDIESEL, projeto desenvolvido para uso de óleos vegetais como combustível, desenvolvido em parceria pelo INT, IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas) e CEPLAC (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira). Nesta

década foi depositada a primeira patente de Biodiesel no Brasil, desenvolvida pelo professor da Universidade Federal do Ceará, Expedito Parente (LIMA, 2005). Como o interesse Europeu sobre o biodiesel aumentou, o Brasil enxergou nele uma forma de fortalecer a inclusão social e desenvolvimento regional, surgindo em 2004 o Programa Nacional de Produção do Biodiesel (PNPB). No ano de 2008, o implemento da lei nº 11.097/2005 estabeleceu a introdução de 2 % de biodiesel no diesel comercializado. O aumento da produção de biodiesel ao longo dos anos é ilustrado na Figura II.1, onde a consolidação do mercado de biocombustíveis no Brasil teve expansão conforme a progressão das metas alcançadas, sendo que a proporção de biodiesel adicionada ao óleo diesel passou a ser de 7 % a partir de novembro de 2014, conforme a Lei nº 13.033/2014 e de 8 %, a partir de março de 2017, com cronograma estabelecido para introdução de 9 % em 2018 e 10 % em 2019 (ANP, 2017).

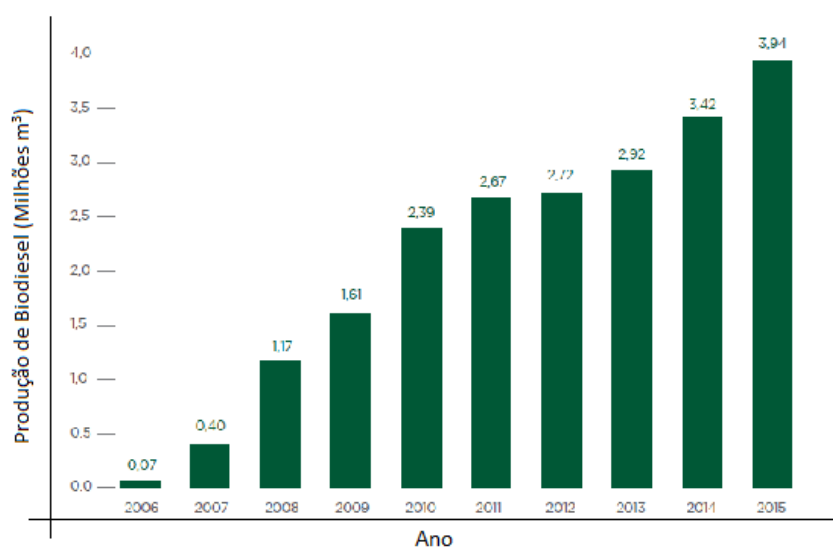


Figura II.1- Evolução da produção de biodiesel no Brasil (2006 – 2016).

Fonte: ANP (2017).

Com base no Decreto nº 5.297 de 2004, os produtores de biodiesel que promoverem a inclusão social de seus fornecedores de matéria-prima, baseados nos agricultores familiares enquadrados no Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar – PRONAF, com segurança de assistência e capacitação técnica aos agricultores, receberão o selo “Combustível Social”, além de redução das alíquotas da Contribuição para o PIS/PASEP e da COFINS incidentes na produção e na

comercialização de biodiesel no Brasil. Esta ação tem o objetivo de desenvolver políticas públicas específicas, voltadas para a promoção da produção de combustíveis renováveis, fortalecendo a produção de matéria-prima para produção de biodiesel e promovendo benefícios de inclusões sociais e desenvolvimento regional, com a geração de empregos no campo (LIMA, 2005).

A demanda mundial por recursos energéticos utiliza 75% de fontes provenientes de petróleo, mas os benefícios ambientais e a possibilidade da independência do petróleo fazem com que cada vez mais estudos avancem e o consumo de biocombustíveis aumente, mudando progressivamente o cenário mundial (Figura II.2). O Biodiesel ainda possui alto custo de produção e, por fatores econômicos, muitas vezes não consegue competir com combustíveis fósseis (ESCOBAR *et al.*, 2009).

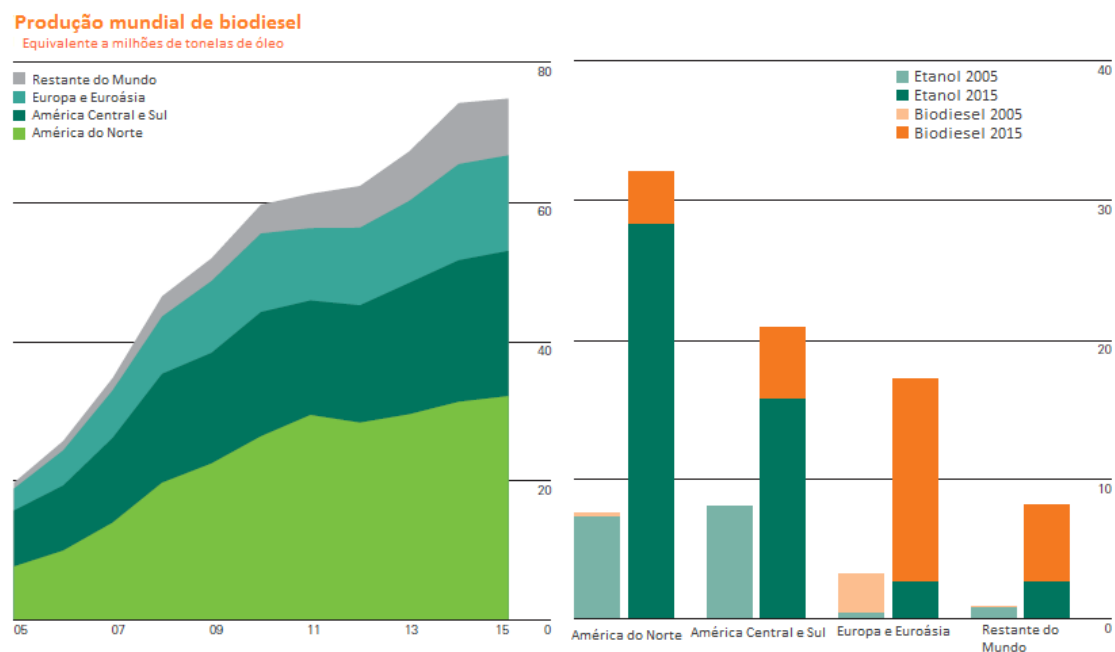


Figura II.2- Produção Mundial de Biodiesel

Fonte: BP Statistical Review of World Energy - Junho 2016

II.2 Matérias-primas para a Produção de Biodiesel

O custo da matéria-prima para produção do biodiesel representa de 60 a 85% do custo total de processo (KNOTHE *et al.*, 2006; MONDALA *et al.*, 2009; REVELLAME *et al.*, 2010). Dentro deste contexto, uma das soluções apontadas para a

redução do custo de produção, possibilitando a concorrência econômica do biodiesel com o diesel derivado de petróleo, é buscar fontes de matérias-primas alternativas e de menor custo, uma vez que os preços dos óleos vegetais comestíveis são superiores aos do combustível diesel (SINGH e SINGH, 2010).

Dependendo do tipo de matéria-prima utilizado na produção, o biodiesel pode ser classificado em três categorias, tais como biodiesel de primeira, segunda e terceira gerações. O biodiesel de primeira geração é produzido basicamente a partir de óleos de fontes vegetais comestíveis, sendo atualmente, o principal tipo de matéria-prima utilizada na produção de biodiesel. Culturas de produção de óleos comestíveis competem por terras agricultáveis, água e fertilizantes, sendo estes, considerados os principais pontos que encarecem os óleos de origem vegetais (ZIVKOVIC *et al.*, 2017).

Já a produção do biodiesel de segunda geração se dá a partir de fontes oleosas não-comestíveis ou óleos residuais e são consideradas como fontes de baixo custo. Podem ser classificados como graxas amarelas, com presença de até 15 % de ácidos graxos livres, ou graxa marrom, com quantidades de ácidos graxos livres acima de 15%, devido a presença de elevada quantidade destes compostos. Embora matérias-primas com elevado teor de ácidos graxos livres necessitem de rotas reacionais específicas, que podem encarecer o custo de produção, alguns pré-tratamentos podem ser aplicados, como, por exemplo, filtração, purificação e pré-esterificação da gordura utilizada. Uma problemática presente em óleos de segunda geração é o fato de apresentarem cadeia saturada, podendo gerar biodiesel de baixa qualidade. Biodiesel de terceira geração são produzidos basicamente por óleo de microalgas (BHUIYA *et al.*, 2016).

No ano de 2016, setenta e cinco por cento da produção de biodiesel no Brasil, foi proveniente da soja (Fig. II.3), principal matéria-prima empregada na produção de biodiesel no Brasil (ANP, 2017). Entretanto, sua importância no comércio de exportações nacionais compromete sua expansão na produção biodiesel, devido à fatores econômicos e disputa pelo mercado alimentício (LEITE e LEAL, 2006). Por este motivo, a ampliação da produção de biodiesel implica na busca por matérias-primas alternativas, despertando interesse por diversas fontes de lipídios, principalmente, matérias-primas que não impliquem impactos ambientais (REVELLAME *et al.*, 2010; SINGH E SINGH, 2010). Também, a sustentabilidade dos biocombustíveis está diretamente ligada ao desenvolvimento de tecnologias agrícolas para o cultivo de culturas variadas, visando à busca de matérias-primas mais abundantes, que possam ser

produzidas em condições variadas de clima e solo, além do baixo custo e maior rendimento por hectare de área plantada (LEITE e LEAL, 2006).

As próximas posições ocupadas por matérias-primas no “ranking” de produção das usinas foram a gordura animal (11,97 %), outras matérias graxas (8,71 %), gordura de porco (2,16 %) e outras fontes (2,14 %), conforme mostrado na Figura II.2.

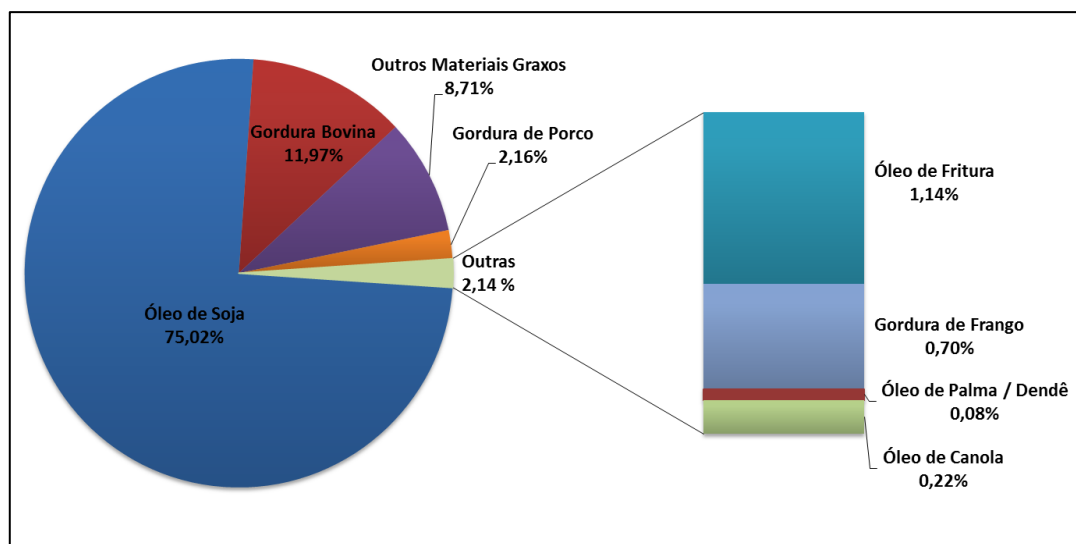


Figura II.3- Perfil nacional de matérias-primas consumidas para produção de biodiesel no ano de 2016.

Fonte: ANP (2017).

Além das oleaginosas não comestíveis, outras fontes alternativas podem ser consideradas, tais como o lodo de esgoto, que constitui uma alternativa de matéria-prima de baixo custo para a produção de biodiesel, e que propicia a solução de problemáticas relacionadas aos resíduos do tratamento de esgoto, como, por exemplo, a redução dos custos gerados por tratamentos e destinações finais, dessa forma, podendo ser considerados, a destinação e utilização do lodo de esgoto, benefícios ambientais. Apesar de ser uma fonte promissora de matéria-prima para a produção de biodiesel, ainda existem desafios que precisam ser superados, como a presença de água, que impacta na produção de biodiesel por transesterificação por catálises convencionais, e também, a abundância de ácidos graxos livres, o que acarreta na necessidade de vias reacionais diferenciadas, além de impurezas e outros fatores que impedem prontamente sua utilização no mercado de Biocombustíveis (KWON *et al.*, 2012).

Gerada em grandes quantidades em todo o mundo, o lodo de esgotos domésticos contém uma quantidade significativa de óleos e gorduras, sendo observados

valores entre 2 a 35% de lipídios em sua composição, podendo, por este motivo, ser considerada uma matéria-prima promissora para a produção de biodiesel (DUFRECHE *et al.*, 2007; WILLSON *et al.*, 2010; SIDDIQUEE e ROHANI, 2011; OLKIEWICZ *et al.*, 2014; TYAGI e LO, 2013).

II.3 Lodo de Esgoto Doméstico como Fonte de Matéria-Prima Alternativa para a Produção de Biodiesel

Segundo a norma brasileira NBR 9648 (ABNT, 1986), esgoto doméstico são os "despejos líquidos resultantes do uso da água para higiene e necessidades fisiológicas humanas". Como consequência do esgotamento sanitário e com a retirada dos excrementos das casas e centros urbanos, pôde-se afastar os vetores de transmissão de doenças e contaminação de águas subterrâneas, promovendo, assim, saúde coletiva, pois a saúde pública depende diretamente do nível de saneamento básico presente em uma comunidade (SOARES *et al.*, 2002).

Desse modo, o esgoto doméstico é formado por efluentes provenientes de residências e comércios em geral, sendo composto de 99,9% de água e 0,1% de sólidos dissolvidos, sendo os sólidos, compostos por substâncias orgânicas (gorduras, óleo, graxas e proteínas) e inorgânicas (VON SPERLING, 2005).

Quando chega à ETE, o efluente passa por um tratamento preliminar, com a retirada de sólidos grosseiros por gradeamentos e desarenador, e, posteriormente, tratamento primário, onde são retiradas parte da matéria orgânica por sedimentação ou flotação. Em casos de tratamento de esgoto com Reatores Anaeróbios de Fluxo Ascendente (UASB) a fase de decantação primária é dispensada (VON SPERLING, 2014). O flotante do reator anaeróbio é denominado espuma ou lodo secundário, e apresenta presença de bactérias que se desenvolvem em condições ambientais específicas, bem como matéria orgânica dispersa no meio e que não ficou retida nos mecanismos de retenção do reator (TCHOBANOGLOUS *et al.*, 2003).

No sistema de tratamento biológico, as bactérias e microrganismos degradam toda a matéria orgânica disponível, por processos aeróbios ou anaeróbios. Além disso, diferentemente do tratamento químico, este tipo de tratamento contribui com a presença de microrganismos no lodo de esgoto, ampliando a concentração de ácidos graxos presentes no meio, com a presença de lipídios como esteróides, matéria-prima lipídica

presente nas membranas celulares de formação fosfolipídica destes microrganismos, entre outros ácidos graxos (LIU *et al.*, 2013).

A espuma gerada no reator anaeróbico compromete a eficiência do tratamento de esgoto, sendo necessário a sua remoção. Porém, sua destinação final são os aterros industriais de controle específico, pois este lodo pode conter metais pesados, vestígios de fármacos e muitos infectantes biológicos. Por este motivo, a utilização do lodo de esgoto como adubo orgânico não é aprovada em muitos países, se tornando, assim, a destinação, um custo a mais para a ETE, podendo-se dizer que a destinação dos resíduos sólidos gerados durante o tratamento de esgoto contribui com 60 % dos custos operacionais da Unidade (YI *et al.*, 2016).

O lodo de esgoto pode apresentar teores de gordura de 2 a 35% em massa (OLKIEWICKZ *et al.*, 2014). Dessa forma, este se constitui em uma fonte de matéria-prima barata, levando-se em consideração que 75 % do valor do Biodiesel produzido é determinado pela matéria-prima, sendo, então, um dos fatores mais impactantes para a composição de valores para a comercialização (KWON *et al.*, 2012). Além de excelente disposição de matéria graxa para a produção de biodiesel, como discutido anteriormente, tem capacidade de geração em grandes quantidades (SIDIQUEE e ROHANI, 2011).

Apesar do índice considerável de lipídios encontrados no lodo de esgoto, em relação às principais matérias-primas utilizadas, a produção de biodiesel por esta matéria-prima alternativa ainda encontra muitos desafios. Um destes é a retirada de água do lodo de esgoto, que atrapalha as reações para a produção de ésteres, gerando custos adicionais. Por este motivo, a utilização da espuma coletada a partir do leito de secagem pode ser considerada, uma vez que, nesta etapa, ocorre a secagem do material por evaporação (VON SPERLING, 2014).

Entretanto, a coleta da espuma de esgoto do leito de secagem implica em outra problemática observada na produção de ésteres por lodo de esgoto, como o alto índice de acidez encontrado na gordura coletada. A alta acidez na matéria lipídica indica a degradação do seu estado de conservação, pois, quando em contato com o oxigênio e a luz, ocorre uma oxidação dos lipídios, promovendo a quebra das cadeias de triacilgliceróis, liberando os ácidos graxos e aumentando a acidez do meio. Estes dois fatores impactam diretamente na rota de produção do Biodiesel e por este motivo, o conhecimento da composição e características da matéria-prima em questão se tornam

necessárias para a consideração de adoção de rotas de reação catalítica de acordo com as características apresentadas (GIRISHA *et al.*, 2014).

II.3.1 Composição do Lodo de Esgoto

O lodo de esgoto é composto principalmente por matéria orgânica e inorgânica (JARDE *et al.*, 2005). Como apresentado anteriormente, a matéria orgânica não digerida é proveniente principalmente de proteínas, carboidratos e lipídios, com riqueza em resíduos biológicos e vegetais, com estrutura fenólica (ligninas) ou alifáticas (cutinas e suberinas), material fecal, além de vasta comunidade microbiológica, como bactérias, fungos e protozoários. Se descartado no ambiente sem tratamento adequado, além da liberação de compostos de carbono, oxigênio, nitrogênio, fósforo e enxofre, a estabilização biológica do lodo de esgoto pode levar à redução de oxigênio nos recursos naturais (TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003).

Assim, pode-se observar que, além dos lipídios provenientes de óleos e graxas residuais de cozinha, a extração de lipídios da espuma de esgoto pode contar com o aproveitamento, também, de uma quantidade significativa de fração lipídica de ácidos graxos de cadeia longa, a partir dos fosfolipídios das membranas das células de microrganismos, os seus metabólitos e derivados de lise celular (GIRISHA *et al.*, 2014). Para a produção de biodiesel puro, apenas os triacilgliceróis e os ácidos graxos livres são os lipídios de interesse, sendo os mesmos, classificados como lipídios neutros (REVELLAME *et al.*, 2010).

Neste contexto, cabe ressaltar que os lipídios são biomoléculas de alta massa molar, insolúveis em água e são os principais componentes moleculares da matéria viva. Principal fonte de armazenamento de energia, além de terem importante função na composição estrutural, intra e extracelular dos seres vivos. Os lipídios de armazenamento são moléculas hidrofóbicas e não polares, sendo conhecidos como triacilgliceróis. Já os lipídios de membranas são anfipáticos, com domínio polar e apolar, e são divididos na classe fosfolipídios, que por sua vez se subdividem em glicerofosfolipídios e esfingolipídios, e classe glicolipídios, subdivididos em esfingolipídios com presença de mono ou oligossacarídeo na estrutura molecular, conforme ilustrado na Figura II.4. São formados por unidades fundamentais

denominadas ácidos graxos e podem ser classificados em lipídios de armazenamento (neutros) ou lipídios de membranas (polares) (NELSON e COX, 2002).

Ácidos Graxos são ácidos carboxílicos com cadeia carbônica longa, sendo, na sua grande maioria, sem presença de ramificações e contendo número par de carbonos devido à rota bioquímica de síntese. Além dos ácidos graxos diferirem entre si pelo número de carbonos da cadeia, o que caracteriza a sua nomenclatura, também se diferenciam pelo número de insaturações, podendo ser classificados em saturados, monoinsaturados e poliinsaturados (RAMALHO e SUAREZ, 2012).

As moléculas de ácidos graxos saturados possuem em sua estrutura, ligações simples entre os carbonos, sendo esta, a principal causa da característica pastosa em gorduras. Já os óleos, possuem em grande maioria, tipos estruturais monoinsaturados, com a presença de uma ligação dupla entre carbonos, ou poli-insaturados, quando com duas ou mais ligações duplas entre carbonos. Cabe ressaltar que, quanto menor o tamanho da biomolécula de lipídio, maior é o seu potencial energético, bem como maior a possibilidade de a molécula sofrer oxidação. Desta forma, se um lipídio permanecer por longo período em exposição ao oxigênio do ar, ocorre a clivagem oxidativa de duplas ligações nos compostos insaturados, produzindo aldeídos e ácidos carboxílicos de cadeia curta (NELSON E COX, 2002; FAHY *et al.*, 2005).

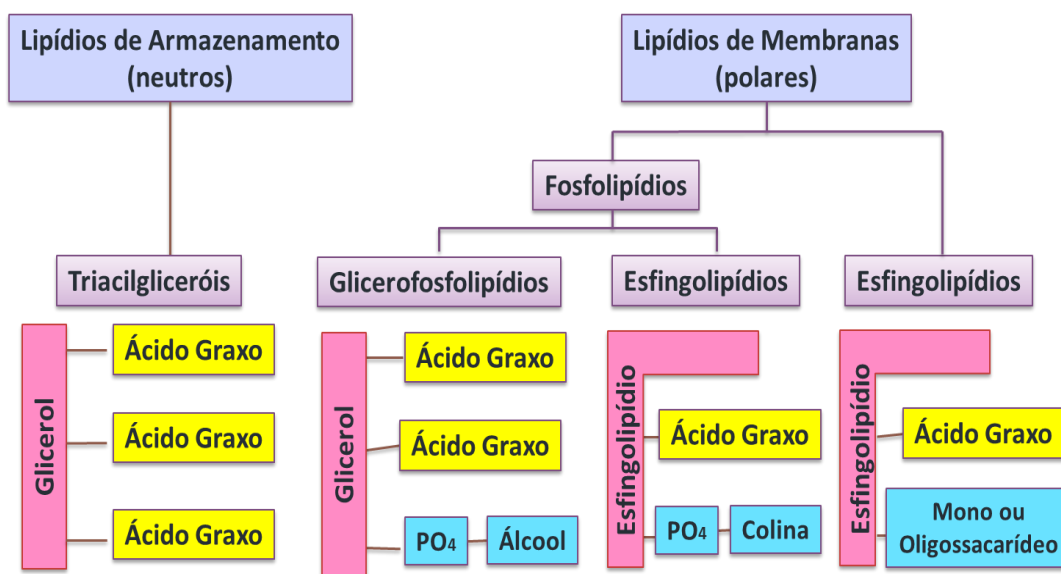


Figura II.4- Principais classes de lipídios de armazenamento e de membrana

Fonte: Adaptação NELSON e COX (2002).

O ponto de fusão do biodiesel depende fortemente do comprimento da cadeia molecular e do grau de insaturação, portanto, o biodiesel produzido a partir do lodo com maior quantidade de ácidos graxos saturados, possui comportamento de temperatura desfavorável no frio (MELERO *et al.*, 2015), além de propiciar a produção de uma viscosidade relativamente alta no óleo obtido e mais tarde, na produção do biodiesel (WILSON *et al.*, 2010). No entanto, um estudo de Knothe (2006) mostrou que uma diminuição no comprimento da cadeia leva à diminuição da viscosidade, ponto de fusão, número de cetanos e calor de combustão.

O biodiesel é produzido, principalmente, por reação de transesterificação ou esterificação de triacilgliceróis e ácidos graxos com álcool de cadeia curta, na presença de um catalizador, resultando em glicerol e ésteres. Os ésteres gerados do lodo de esgoto apresentam, basicamente, ésteres de ácido láurico (C12:0), ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoleico (C16:1), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1n.9c), ácido elaídico (C18:1n.9t), ácido linoleico (C18:2.6c), ácido aracdônico (C20:4.6c) e o ácido eicopentanóico (C20:5.3c) (DUFRECHE *et al.*, 2007; MONDALA *et al.*, 2009; REVELLAME *et al.*, 2010; SIDDIQUEE *et al.*, 2011; GERHARD *et al.*, 2015; OLKIEWICZ *et al.*, 2015; OLKIEWICZ *et al.*, 2016). Na Figura II.5 é mostrada a composição média em ácidos graxos do lodo de tratamento primário e secundário, utilizados na obtenção de biodiesel (MELERO *et al.*, 2015).

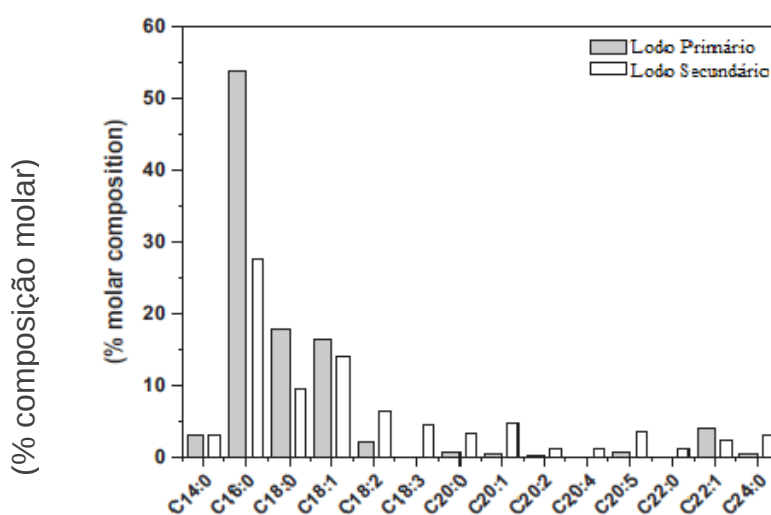


Figura II.5 – Composição em ácidos graxos extraídos do lodo de tratamento primário e secundário.

Fonte: Melero *et al.* (2015).

Apesar da boa composição em ácidos graxos, provenientes da transesterificação de lipídios extraídos do lodo de esgoto apresentados na literatura, algumas problemáticas como a segurança na manipulação do lodo de esgoto e o conhecimento das características dos lipídios extraídos, são informações importantes para a efetividade do seu aproveitamento na produção de ésteres.

II.3.2 Preparação e Processos de Desinfecção do Lodo de Esgoto

O lodo, resíduo gerado no tratamento de esgoto doméstico, possui uma carga microbiológica que varia entre fungos, bactérias, protozoários e outros organismos, podendo conter microrganismos patogênicos e causadores de doenças (SCOTT *et al.*, 2005). Por este motivo, para a manipulação deste resíduo com segurança, há a necessidade de um processo de desinfecção.

Desinfecção é um processo utilizado para remoção de microrganismos, realizado por agentes físicos, químicos ou biológicos, que acarreta na morte ou dano parcial ou total do organismo, em consequência de alguma alteração de aspectos de funcionamento físico ou fisiológico, tais como danificação da parede celular, citoplasma e núcleo, alteração da permeabilidade da célula, alteração da natureza coloidal do protoplasma e inibição da atividade enzimática, apresentando, em geral, comprometimento do desenvolvimento das atividades elementares (TCHONANOGLOUS *et al.*, 2003).

Os processos de desinfecção geralmente têm eficiência elevada na remoção de organismos patogênicos, sendo igual ou superior em comparação à remoção de coliformes totais (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

Em relação ao cenário brasileiro, mais especificamente no estado do Paraná, adotou-se uma instrução normativa que fixa os parâmetros para a qualidade sanitária do lodo em coliformes fecais, menor ou igual a 10^3 NMP/g de lodo seco. Este limite pressupõe que o lodo tenha passado por processos convencionais de estabilização biológica, seguidos de processo de higienização, tais como calagem ou processos de oxidação avançado, que compreende a utilização de luz ultravioleta, aeração, entre outros (PROSAB, 2001).

II.3.2.1 Ultrassom

Algumas espécies de bactérias se aglomeram, formando flocos bacterianos, e, por este motivo, a desinfecção se torna de difícil ação. O ultrassom vem sendo estudado como método de tratamento alternativo nos sólidos de esgoto, pela grande eficiência em desaglomerar estas partículas. Além de desagrupar flocos bacterianos, possibilitando a ação de desinfecção por outros métodos, o ultrassom é capaz de inativar bactérias através de uma série de efeitos físicos, mecânicos e químicos decorrentes da cavitação acústica (JOYCE *et al.*, 2003).

As ondas de alta frequência, aplicadas à uma pressão negativa, tem a capacidade de produzir bolhas em um ambiente líquido, ocasionadas por meio de colapsos causados pela oscilação de pressões acústicas (FU *et al.*, 2007). Desse modo, acontecem grandes ondas de choques e radicais livres (PARLITZ *et al.*, 1995), que colapsam a membrana de microrganismos, causando uma lise celular, ou seja, rompimento de estruturas celulares e inativação de compostos tóxicos (LEIGHTON *et al.*, 2006), sendo, então, amplamente conhecida pela desintegração de células microbianas (FOLADORI *et al.*, 2006).

Ultrassons com frequência entre 20 kHz e 10 MHz tem grande potencial em quebrar partículas sólidas em suspensão por efeitos mecânicos (BLUME e NEIS, 2004). Desse modo, uma sonificação a 20 kHz, por 35 minutos, pode fazer a inviabilização de microrganismos em duas etapas: primeiro ocorre a quebra de partículas suspensas, que podem abrigar e proteger microrganismos; e em seguida há a inativação das células suspensas (CUI *et al.*, 2011).

Blume e Neis (2004) mostraram sucesso na aplicação de ultrassom no lodo de esgoto, obtendo redução das partículas, de 70 para 11µm, promovendo a facilitação da desinfecção por Ultravioleta (BLUME e NEIS, 2004). Segundo Joyce *et al.* (2003), seus estudos apontaram eficiência na utilização de ultrassom, na frequência de 20 kHz, pelo período de 15 minutos, tanto na solução de bactérias em suspensão, na concentração de 100 cm³, como também em concentrações maiores, por exemplo, 150 cm³. Em ambos os ensaios, houve declínio na concentração de microrganismos na suspensão, seguido de alta taxa de mortalidade (JOYCE *et al.*, 2003).

Assim, de acordo com a literatura, com a finalidade de utilização de técnicas físicas de desinfecção da espuma de esgoto, a aplicação de processos como a radiação

ultravioleta e secagem térmica, precedidos pela utilização de ultrassom, resulta em bons resultados na inativação de microrganismos.

II.3.2.2 Radiação Ultravioleta

O emprego da radiação ultravioleta vem sendo utilizado como metodologias alternativas de desinfecção. A sua utilização, porém, pode ser afetada por partículas em suspensão do meio utilizado, que impedem a propagação dos fótons causadores de lesões nos ácidos nucleicos dos microrganismos e, também, reações fotoquímicas em proteínas e enzimas, essenciais para as funções celulares (BECK *et al.*, 2015).

Lâmpadas de efeito germicida emitem radiação na faixa de 280 a 100 nm, sendo o comprimento de 254 nm o melhor desempenho germicida, denominado como radiação UV-C. A maioria dos danos nas proteínas celulares, ocorre abaixo de 240 nm, faixa de grande absorção de luz UV (USLU, 2015).

Dentro do contexto de aplicação de radiação ultravioleta para desinfecção em lodo de esgoto, Souza *et al.* (2012) mostraram resultados da inativação de coliformes totais e *E. coli*, variando valores de 1 log até 5 logs de inativação nas unidades formadoras de colônias, com doses de radiação UV na faixa de 254 nm, mostrando que a utilização de dosagens de radiação germicida tem grande eficiência na redução de microrganismos presentes em amostras de lodo de esgoto.

II.3.2.3 Tratamento Térmico

A secagem térmica permite que ocorra a retirada do líquido do meio por evaporação, bloqueando a atividade biológica, que pode ser retomada desde que haja reidratação do resíduo (PROSAB, 2001). Pode ocorrer desinfecção da matéria-prima pela degradação térmica dos microrganismos, consistindo na elevação da temperatura e, como consequência, ocasionando a evaporação dos líquidos intracelulares de microrganismos e degradação de proteínas essenciais (DUFRECHE *et al.*, 2007). Além das vantagens da desinfecção, segundo Olkiewicz *et al.* (2015), o lodo seco é melhor para produção de ésteres via transesterificação, visto que a presença de água prejudica a reação de transesterificação por vias catalíticas básicas.

II.3.3 Parâmetros de Estabilização do Lodo de Esgoto Após Desinfecção

II. 3.3.1 Análise Microbiológica

A realização de análise microbiológica pode indicar a presença ou ausência de microrganismos, bem como a quantidade de células viáveis na amostra, e torna-se necessária para certificação da eficiência de procedimentos de desinfecção realizados (ISHII *et al.*, 2008).

Alguns microrganismos são utilizados como indicadores ambientais de contaminação fecal, como é o caso da utilização de bactérias como coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli*, que, além de estarem presentes no trato intestinal de animais de sangue-quente, sendo capazes de sobreviver de forma semelhante à microrganismos patogênicos no ambiente, estão sempre presentes em amostras com presença de microrganismos patogênicos e de forma abundante, e podem ser detectados e quantificados por métodos simples (STEWART *et al.*, 2007). Estas bactérias são utilizadas para apontar a potencial presença de um microrganismo patógeno, uma vez que a detecção e enumeração de muitos tipos de organismos patogênicos é de maior dificuldade, devido à sua presença em baixas quantidades e à requisitos específicos de crescimento. Dessa forma, a presença de microrganismos indicadores, como *E.coli*, apontam a potencial presença de outros microrganismos patogênicos (ISHII *et al.*, 2008).

As análises microbiológicas para utilização de lodo de esgoto, regidas pela U.S. - EPA (Agência de Proteção Ambiental dos U.S., parte 503), tem por objetivo determinar a redução de microrganismos patógenos à limites aceitáveis para aproveitamento agrícola de lodo de esgoto, com a aplicação no solo, que não represente ameaças à saúde pública e ambiental. Assim, é indicado como parâmetro de estabilização, a determinação quantitativa de coliformes fecais e *E. coli*, realizada pela técnica de membranas filtrantes, que pode ser baseada na norma 9222, da metodologia descrita em APHA (2012). Nesta análise, após incubação, há a identificação e contagem das unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC/g). No Brasil, o limite, regido pela resolução estabelecido no Conama 375/06, é de $< 10^3$ NMP/ g de sólidos totais.

II.3.3.2 Análise de Sólidos Totais, Fixos e Voláteis

Segundo a Norma Norte Americana 40 CFR Part 503, a caracterização em teor de cinzas e sólidos voláteis é uma análise importante para estabelecimento de parâmetros de estabilização da espuma e lodo gerados no processo de tratamento de esgoto, bem como para quantificar a fração orgânica presente e que pode ser volatilizada.

Segundo a Sabesp (1999), toda substância sólida no lodo de esgoto, que permaneça como resíduo após várias operações, como secagem e calcinação, de origem orgânica ou mineral, podem ser classificadas em:

- Sólidos Totais: Todas as substâncias que permaneçam na cápsula após a secagem total de um determinado volume de amostra. Nesta etapa retira-se basicamente a umidade;
- Sólidos em Suspensão Fixos: Todas as substâncias que permaneçam retidas na membrana após filtração, secagem e calcinação em forno-mufla, também conhecido como teor de cinzas;
- Sólidos em Suspensão Voláteis: Resultado da subtração entre os sólidos em suspensão totais e os sólidos em suspensão fixos. Todas as substâncias que se volatilizaram após a calcinação no forno-mufla são consideradas substâncias orgânicas.

II.3.4 Caracterização dos Lipídios Presentes no Lodo de Esgoto

A caracterização da matéria lipídica presente no lodo de esgoto é de grande importância, pois, por meio dela, pode-se propor novas configurações para a melhoria do processo de extração e esterificação/transesterificação, bem como estabelecer a melhor rota catalítica para a produção de ésteres (PASTORE *et al.*, 2013).

II.3.4.1 Índice de Acidez

A determinação da acidez está diretamente relacionada com o grau de oxidação de óleos e graxas, apontando o grau de conservação dos mesmos, uma vez que a decomposição de triacilgliceróis é responsável pela formação de ácidos graxos livres. O

índice de acidez caracteriza os ácidos graxos residuais, resultantes do processo de oxidação dos lipídeos, que pode ocorrer por autooxidação, fotoxidação, termoxidação e oxidação enzimática, sendo favorecida por vários fatores, entre estes, a presença de oxigênio (SILVA *et al.*, 1999).

É definido como o número de miligramas (mg) de hidróxido de potássio ou sódio, necessário para neutralizar os ácidos graxos livres de um grama (g) da amostra (INSTITUTO ADOLPH LUTZ, 1985). Segundo a AOCS (1995), também pode ser expresso como a porcentagem de ácidos graxos livres, expressa como ácido oleico ou como ácido graxo presente na amostra em maior quantidade, em óleos comuns, brutos e refinados. Assim, a expressão do resultado indica uma idéia geral de acidez e não uma determinação específica de ácido oleico. O que este método acusa é a formação em andamento de grupos carboxila ($-\text{COOH}$) (MORETTO e FETT, 1998).

Na produção do biodiesel, a determinação da acidez é uma das caracterizações mais importantes da matéria-prima, pois esta informação determina qual o tipo de rota que será utilizada na reação de produção, sendo que óleos com quantidade de ácidos graxos livres maiores de 1% possuem maior valor de acidez, sendo necessária uma rota de reação por catálise ácida ou heterogênea, o que não ocorre em óleos de acidez baixa, para os quais a preferência é por rotas via catálise homogênea básica (KWON *et al.*, 2012 ; SIDDIQUEE *et al.*, 2011).

Segundo Boocock *et al.* (1992), o emprego de solventes e metodologias de extrações também tem relação com o índice de acidez nos lipídios extraídos de lodo de esgoto, uma vez que compostos polares e apolares extraem, além dos lipídios presentes no meio, os lipídios contidos nas membranas celulares dos microrganismos presentes, promovendo uma lise celular e consequente extração de lipídios intracelulares.

II.3.4.2 Índice de Saponificação

O índice de saponificação é definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio (KOH) necessários para saponificar os ácidos graxos, resultantes da hidrólise de um grama de amostra (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 1985).

A partir dos resultados obtidos na análise de índice de saponificação, pode-se determinar a quantidade de álcali necessária para saponificar uma quantidade definida de amostra. Esta determinação indica a presença de óleos e gorduras de ácidos graxos

de baixa massa molar, uma vez que o índice de matéria saponificável é inversamente proporcional à massa molar média dos ácidos graxos dos triacilgliceróis presentes. Dessa forma, quanto menor a massa molar do ácido graxo, tanto maior será o índice de saponificação (KULKARNI e DALAI, 2006).

Por este motivo, a determinação do índice de saponificação, em relação à determinação de lipídios presentes com potencial de produção de ésteres, consiste em uma análise de matéria-prima de grande importância para a produção de biodiesel.

II.3.4.3 Matéria Insaponificável

Matéria Insaponificável diz respeito aos lipídios que não se convertem em ésteres, representando, então, os lipídios contaminantes (OLKIEWICZ *et al.*, 2015). Assim, matéria insaponificável corresponde à quantidade total de substâncias dissolvidas nos óleos e gorduras que, após saponificação com álcalis, são insolúveis em solução aquosa, mas solúveis em solventes orgânicos. Exemplos de matéria insaponificável em óleos vegetais são os esteróis, tocoferóis, hidrocarbonetos, álcoois e produtos de degradação (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 1985).

Portanto, a análise de matéria insaponificável em lipídios, pode quantificar os lipídios contaminantes, podendo-se, desta forma, determinar previamente, a quantidade de lipídios que não se converterão em ésteres na produção de biodiesel.

II.3.4.4 Índice de Peróxido

O índice de peróxido constitui uma análise relacionada ao grau de oxidação da amostra lipídica. Amostras com alto índice de peróxidos indicam alto grau de oxidação da matéria lipídica, e está diretamente relacionada com o grau de insaturação do ácido graxo, comprometendo a qualidade da matéria-prima para a produção de ésteres. A deterioração da gordura por oxidação ocorre com o ataque do oxigênio às duplas ligações das moléculas de lipídios, resultando na formação de peróxidos (WHEELER, 1931).

Na análise para determinação do índice de peróxido, devido a sua ação fortemente oxidante, os peróxidos orgânicos formados no início da oxidação atuam

sobre o iodeto de potássio, liberando iodo que será titulado como tiossulfato de sódio, em presença de amido como indicador. Assim, determinam-se, em 1000 g de amostra, todas as substâncias que oxidam o iodeto de potássio, sendo estes, considerados peróxidos ou produtos similares provenientes da oxidação de óleos (MAPA, 2014).

II.3.4.5 Umidade

A presença de umidade em amostras de triacilgliceróis e ésteres está relacionada à oxidação dos lipídios presentes, ocasionando a hidrólise de triacilgliceróis, resultando na formação de ácidos graxos livres, glicerol, monoacilgliceróis e diacilgliceróis (KULKARNI e DALAI, 2006).

Boocock *et al.* (1992) encontraram valores de umidade entre 1,5 a 5% na matéria graxa extraída do lodo de esgoto das metodologias de Karl Fischer por titulação e por secagem em forno até massa constante. Contudo, Gerhard *et al.* (2015) citam que, durante a reação de transesterificação *in situ*, o alto teor de água no lodo de esgoto não afetou a reação de síntese de ésteres, devido ao excesso de metanol no meio reacional.

Pokoo-Aikins *et al.* (2010) relatam que o lodo utilizado para a extração dos lipídios possuía 0,8 % (massa) de água, entretanto, não houve interferência na reação. Lee *et al.* (2002) relatam que, devido aos estudos acerca da quantidade de AGL e umidade relacionados ao declínio da reação de transesterificação via catálise básica, realizaram tratamento na matéria lipídica residual de restaurante (OGR) com uma mistura de silicato de magnésio e óxido de alumínio para absorver compostos polares, reduzindo de 10,6 % em AGL e 0,2 % de água para 0,23 em AGL e 0,02 % em água, o que favoreceu a catálise alcalina e maximizou com sucesso a conversão da OGR do restaurante em biodiesel.

Wilson *et al.* (2010) realizaram a análise de umidade por TD – NMR, encontrando 10 % (massa) de umidade para o óleo extraído do lodo de esgoto, adotando o processo de secagem do óleo a 40 °C, por 30 minutos, antes da utilização. Também, Gerhard *et al.* (2015) adotaram o método de retirada de umidade do óleo extraído previamente à utilização para transesterificação, aquecendo o extrato a 105 °C, por 15 minutos.

Para a análise de umidade contida na amostra por meio do aparelho Karl Fisher, a determinação se dá por uma reação de óxido-redução, na qual o iodo é

reduzido pelo dióxido de enxofre, na presença da água e tendo término quando toda a água do meio for consumida (LOBO *et al.*, 2009).

A análise em aparelho Karl Fischer segue a metodologia titulométrica, utilizando um reagente constituído por uma mistura de iodo, dióxido de enxofre e piridina em metanol, responsável pelo consumo da água presente no meio reacional, em uma reação de óxido-redução, podendo-se obter resultados com qualidade e precisão (FELGNER *et al.*, 2008).

II.4 Síntese de Ésteres

A reação de transesterificação é a rota tecnológica mais utilizada para a produção de ésteres alquílicos de óleos e gorduras (biodiesel). A mesma ocorre entre um triacilglicerol e um álcool, de cadeia curta, na presença de um catalisador, formando ésteres e glicerol (ESCOBAR *et al.*, 2009). Esta reação de transesterificação consiste em uma série de reações reversíveis consecutivas e em etapas, uma vez que o triacilglicerídeo ao reagir com o álcool primário é convertido em diacilglicerídeos, monoacilglicerídeos e, finalmente, glicerol (SIDDIQUEE e ROHANI, 2011).

A gordura extraída do lodo de esgoto apresenta elevado teor de ácidos graxos livres, um obstáculo para a produção de biodiesel, pois aumenta a necessidade de catalisadores para a realização da reação (DUFRECHE *et al.*, 2007). Há rotas reacionais com utilização de catalisador homogêneo básico ou ácido, além de enzimas ou catalisadores heterogêneos. Para reações com adição de catalisadores homogêneos básicos, a conversão de triacilglicerol é alta, porém, os ácidos graxos livres tendem a reagir com o catalisador, favorecendo a produção de sabão. Este tipo de reação acontece de forma mais lenta e exige o controle de água na reação, que pode interrompê-la. A água gerada nesta reação precisa ser constantemente monitorada e retirada (ZIVKOVIC *et al.*, 2017). Freedman *et al.* (1984) recomendaram a utilização de catalisador ácido para matérias-primas lipídicas com ácidos graxos livres acima de 1%. O catalisador ácido é capaz de catalisar a esterificação e transesterificação simultaneamente, amplificando a produção de biodiesel (SIDDIQUEE e ROHANI, 2011). O uso de catalisador como o H_2SO_4 , por exemplo, tem atuação não somente na transesterificação de triacilgliceróis, como também papel fundamental na esterificação de ácidos graxos livres, produzindo novos ésteres de ácidos graxos (PASTORE *et al.*, 2013). A

problemática de catalisadores homogêneos é que o catalisador não pode ser recuperado e, muitas vezes, exige lavagem do biodiesel para a purificação deste, gerando alto consumo de água. Também, o fato da utilização de vias não catalíticas muitas vezes requer que o ambiente de reação seja controlado, com aumento de temperatura e pressão, sendo estes, fatores que podem alterar a viabilidade da produção, principalmente econômica. Já os catalisadores heterogêneos apresentam grande rendimento e podem ser recuperados para a sua reutilização, sendo este método, de grande potencial para a produção de biodiesel com alto teor de ácidos graxos, porém, com custo mais oneroso (SIDDIQUEE *et al.*, 2011).

A reação de esterificação tem como principal produto o éster, na qual o ácido graxo livre reage com um álcool, podendo este, ser o metanol ou etanol, na presença de um catalisador ácido. Contudo, o metanol é um álcool com potencial de emissão de gases de efeito estufa, sendo então comumente substituído pelo etanol, um álcool ambientalmente mais correto, pois não emite GEE, e é produzido a partir de fonte sustentável (ZIVKOVIC *et al.*, 2017).

A reação de transesterificação tem como vantagem a redução da viscosidade de óleos vegetais e, assim, permitir o seu uso em motores diesel sem causar problemas operacionais como a formação de incrustações (KNOTHE *et al.*, 2006).

Hayyan *et al.* (2010) produziram biodiesel a partir de lodo de óleo de palma e obtiveram 98 % de ésteres metílicos, contendo 47 % de ácidos graxos saturados, sendo o palmítico o dominante. Este produto apresentou alto índice de cetano, em comparação ao diesel de petróleo, devido ao alto teor de ácidos graxos saturados, sendo aprovado nas especificações Europeias e Americanas de padrão de biodiesel. Considerando a semelhança entre a composição dos ésteres metílicos do lodo de óleo de palma e as gorduras do lodo de esgoto, o lodo de esgoto pode ser considerado como uma matéria-prima viável para a produção de biodiesel. Da mesma maneira, Gerhard *et al.* (2015) estudaram a qualidade do biodiesel produzido a partir de lodo de esgoto. A composição e o rendimento de ésteres metílicos de ácidos graxos chegaram à 61%, com predominância dos ácidos graxos palmítico, oleico, linoleico e esteárico, em conformidade com os dados encontrados por Mondala *et al.* (2009), Siddiquee e Rohani (2011) e Olkiewicz *et al.* (2014).

II.4.1 Transesterificação *in situ*

A transesterificação *in situ*, ou transesterificação direta, consiste em eliminar a etapa de extração do óleo, realizando a reação direta da biomassa seca, conforme mostrada na Figura II.6. Isto simplifica o processo de produção de biodiesel, permitindo que a extração do óleo e a transesterificação ocorra em uma única etapa (LAM e LEE, 2010). Assim, o tempo de reação e a quantidade de solvente são reduzidos em comparação ao processo de extração e transesterificação de lipídios separadamente (MONDALA *et al.*, 2009).

Pastore *et al.* (2013) utilizaram a transesterificação direta para produção de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) e obtiveram resultados significativos com a purificação final do biodiesel por destilação a vácuo, conseguindo, além do biodiesel, a recuperação de esteróis, ceras, álcoois alifáticos, caroteno e licopeno, aumentando o ganho econômico do processo geral. Segundo os autores, a transesterificação *in situ* permite maximizar o rendimento em FAME e minimizar o consumo e os custos de energia total associado ao processo.

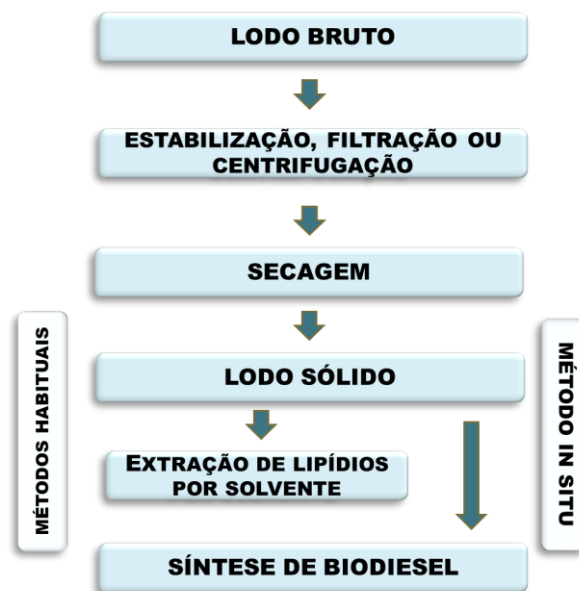


Figura II. 6- Comparação entre a transesterificação convencional e a transesterificação *in situ*.

Fonte: Adaptação Siddiquee e Rohani (2011).

Dufreche *et al.* (2007), mostraram que, após examinar vários métodos de transesterificação com lipídios extraídos do lodo de esgoto, a conversão *in situ* de lipídios em FAMES fornece o maior rendimento global de biodiesel. Os autores realizaram, a produção de ésteres com os lipídios extraídos do lodo seco, variando os solventes, obtendo de rendimento em ésteres, com a extração utilizando hexano, 0,31 % de grama de éster metílico de ácido graxo produzido por 100 g de lodo seco. Da mesma forma, obtiveram 2,76 % de ésteres para a extração realizada com metanol, e, 0,28 % de ésteres para a extração realizada com CO₂ supercrítico.

Siddiquee e Rohani (2011) afirmam que, para a reação de transesterificação *in situ*, diversos parâmetros devem ser observados, tais como rota catalítica (catálise homogênea básica, ácida ou ainda catálise heterogênea), tipo de catalisador empregado, razão molar álcool : óleo, uso de cossolvente, temperatura de reação, tempo de reação, teor de água na amostra e teor de ácido graxo.

Desse modo, o álcool possui um papel fundamental na transesterificação *in situ*, pois devido à sua polaridade, age como solvente, extraíndo os lipídios da bicamada lipídica presente na membrana celular, promovendo a lise celular e extração dos lipídios intracelulares, realizando a esterificação de ácidos graxos livres e transesterificação dos triacilgliceróis (BOOCOCK *et al.*, 1992). Segundo os estudos conduzidos por Dufreche *et al.* (2007), acetona e o metanol tem forças iguais em relação à polaridade, enquanto o hexano não possui força polar, sendo então, apropriado o uso de solventes polares e não polares combinados para a extração de lipídios de microrganismos.

Portanto, a pesquisa conduzida por Dufreche *et al.* (2007) estabeleceu a relação da adição de solventes polares no meio reacional, juntamente com solventes não polares, aumentando o rendimento na extração de lipídios de lodo de esgoto, devido ao fato que a extração primeiramente com um solvente polar ajuda a destruir a membrana celular dos microrganismos presentes, permitindo posteriormente o acesso de solventes não polares para a extração de lipídios intracelulares, previamente inacessíveis. A transesterificação *in situ* de lodo seco resultou em um rendimento em ésteres de 6,23 %, sendo utilizado uma mistura de 1 mL de metanol e 1 % de ácido sulfúrico em 200 mg de amostra. A temperatura de reação foi estabelecida em 50 °C. Os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) obtidos foram os de cadeia C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2, C20:1, C20:4n6 e C23:0

Mondala *et al.* (2009) conduziram experimentos para determinar os efeitos da temperatura, concentração de ácido sulfúrico e relação entre massa do álcool utilizado

(metanol) com massa de lodo, para a produção de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) por transesterificação *in situ*. Os autores concluíram que as melhores condições de reações foram de 75 °C, 5% de catalisador H₂SO₄ (v/v) e proporção 12:1 de metanol para massa de lodo, e obtiveram o rendimento em FAME de 14,5%, a partir de lodo de tratamento primário. Os FAMES mais significativos encontrados foram com cadeias C16:00, C16:1, C18:00, C18:1 e C18:2.

Revellame *et al.* (2010) concluíram que a temperatura acima de 60 °C prejudica o rendimento em FAME na transesterificação *in situ*. A melhor condição reacional estabelecida foi na temperatura de 55 °C, tempo reacional de 24 h, razão metanol : lodo de 25 (v/m) e 4 % em volume de ácido sulfúrico, resultando em 4,88% de Biodiesel, com ésteres de cadeia C16:00, C16:1, C18:00, C18:1 e C18:2.

A espuma de esgoto foi escolhida por Gerhard *et al.* (2015) para a avaliação de melhor rendimento em FAME, em comparação entre a transesterificação *in situ* com catálise ácida, com lodo úmido e seco e, também, com adição de cossolvente, utilizando como catalisador Novozym 435. Os autores obtiveram rendimentos em ésteres de 61 % e 34 % na utilização de lodo úmido e seco, respectivamente, na síntese de ésteres metílicos por reação *in situ* com ácido sulfúrico, com adição de cossolvente hexano. Por outro lado, obtiveram rendimentos de 55 % e 36 % para lodo úmido e seco, respectivamente, para reação *in situ* sem adição de cossolvente, sendo as condições de reação estabelecidas em 7 h a 55 °C, na proporção álcool:lodo de 20:1 (v/m), catalisado por 7 % (m/v) de H₂SO₄. Os ésteres metílicos encontrados foram os de ácidos mirístico (14:0), palmítico (16:0), esteárico (18:0), palmitoleico (16:1 n-7), oleico (18:1 n-9), elaídico (18:1 n-9t), linoleico (18:2 n-6c), araquidônico (20:4 n-6c) e eicosapentaenoico (20:5 n-3c).

Yi *et al.* (2016) conduziram seus estudos de comparação de reação *in situ* e *ex situ* para espuma de esgoto, lodo primário e lodo secundário, para a verificação da matéria-prima mais viável para a produção de biodiesel. A análise das matérias-primas mostrou que a espuma de esgoto é mais rica em lipídios neutros, do que o lodo primário e secundário. Os autores utilizaram as mesmas condições de reação para os dois métodos, diferindo na concentração de solventes e cossolvente. A reação, que utilizou 5 gramas de amostra seca, 25 mL de hexano, 125 mL de solução de metanol e 5% de H₂SO₄, foi conduzida pelo período de 24 horas a 55 °C. Nas reações *in situ*, os autores obtiveram rendimento de 22,7% de ésteres metílicos para produção a partir de espuma de esgoto, 9 % e 1,9 %, para de ésteres metílicos produzidos a partir do lodo primário e

secundário, respectivamente. Já na reação *ex situ*, os resultados de ésteres obtidos foram de 9,1 %, 5 % e 1,5 %, respectivamente, para produção a partir de espuma, lodo primário e secundário, demonstrando, então, que as reações *in situ* são mais vantajosas, em relação às reações que utilizam os lipídios já extraídos, bem como, ressaltam a riqueza de lipídios na espuma, em relação ao lodo primário e secundário. Todas as reações analisadas obtiveram como ésteres abundantes o C16:0 (palmítico) e C18:1 (oleico).

II.5 Conclusões Sobre a Revisão Bibliográfica

A produção de biodiesel busca uma solução para diminuir a dependência dos combustíveis fósseis, visando um combustível de qualidade, que corresponda ao mesmo desempenho dos derivados de petróleo e permita uma grande redução nas emissões de gases causadores do efeito estufa e poluentes. Uma das maiores fontes impactantes da poluição atmosférica é resultado da queima dos derivados de petróleo. Nos Estados Unidos as emissões chegam a 67 % de CO, 41 % de óxidos nitrogenados (NOx) e 51 % dos gases orgânicos reativos, 23 % materiais particulados e 5 % dióxido de enxofre – SO₂ (Lima, 2005). Neste contexto, a busca por matérias-primas alternativas e processos de produção mais eficientes e de menor custo são de suma importância para a consolidação do produto no mercado com menor impacto ambiental. Desse modo, a produção de bicomcombustíveis tende a buscar fontes alternativas de baixo custo de produção, além da preocupação ambiental com a emissão de gases poluentes, em uma só proposta.

Aliando uma solução ambiental e a busca por fontes de matérias-primas alternativas e sustentáveis, o lodo de esgoto resultante do tratamento de esgoto doméstico constitui uma excelente fonte para a produção de ésteres na síntese de biocombustíveis, pois, além de se tratar de uma matéria-prima de baixíssimo custo e de geração constante, o mesmo dispõe de alto teor em ácidos graxos e derivados de qualidade, que podem ser processados e utilizados como biomassa na produção de biodiesel. Cabe ressaltar que, no tratamento de efluentes, esta gordura é descartada, pois interfere no processo de tratamento, contribuindo para fonte de um passivo ambiental.

A transformação dessa fonte de passivo ambiental em ativo energético, como fonte geradora de biodiesel, é um processo promissor, porém, encontra diversas

barreiras, entre estas, o estabelecimento de uma rota tecnológica eficiente para extração da matéria graxa e produção de ésteres. Visando a solucionar esta problemática, pesquisadores vêm realizando cada vez mais pesquisas relacionadas ao tema. Assim, a transesterificação *in situ* do lodo de esgoto visa a simplificar o processo de produção de ésteres, com a possibilidade de redução de custos e problemas relacionados ao manuseio, de forma que ocorra a extração e a transesterificação de ésteres em uma única etapa, promovendo, dessa forma, redução da utilização de solventes empregados na extração, diminuição do tempo despendido e economia de energia empregada.

CAPÍTULO III

MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos utilizados para a caracterização do lodo e lipídios extraídos, assim como a produção de ésteres, foram realizados no Laboratório de Catálise Heterogênea e Biodiesel (LCHBio) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), após procedimento de coleta e pré-tratamento. Os lodos utilizados foram gentilmente fornecidos pela Sanepar – Unidade Mandacaru, na cidade de Maringá, Paraná. A coleta do material utilizado foi realizada no ano de 2016.

III.1 Coleta e Preparação do Lodo de Esgoto

Para as coletas e manipulações das amostras, foram utilizados todos os equipamentos de proteção individual, tais como jaleco de manga comprida, óculos de proteção, bota de material impermeável, luva de material nitrílico (referência CA 9633), e máscara para proteção do tipo PFF 2-, marca 3M, modelo 8023, conforme Cartilha de Proteção Respiratória contra Agentes Biológicos, da Anvisa (2009).

Foram utilizados os lodos recolhidos no leito de secagem receptor de descarga do sobrenadante de reator UASB, com o auxílio de uma peneira de metal da ETE, o qual foi despejado em um recipiente de plástico graduado, para a quantificação aproximada da coleta (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O material foi coletado após permanência no leito de secagem pelo período de 14 dias, para estabilização biológica, ou seja, período em que ocorre redução e morte de microrganismos como fungos, bactérias, vírus e protozoários, além de microrganismos patogênicos (ANDREOLI *et al.*, 2006).

Após o período de estabilização, as amostras de espuma de esgoto coletadas foram, então, submetidas aos processos de desinfecção, que serão descritas a seguir.

III.1.1 Ultrassom

Para a etapa de desinfecção por Ultrassom, foi utilizada lavadora Ultrassônica 36.000 Hz – L200 da marca SCHUSTER.

De acordo a metodologia descrita por Cui *et al.* (2011), foram adicionados aproximadamente 300 mL de lodo de esgoto proveniente do leito de secagem, em béquer de 500 mL e colocado sob cavitação de ultrassom por 35 minutos, em frequência de 20 kHz.

III.1.2 Irradiação por Luz Ultravioleta

Para a etapa de desinfecção por irradiação Ultravioleta, foi utilizada lâmpada Hg - germicida da marca Sylvânia – G36T5 - 39W, bastão de vidro para revolver a amostra e vidro relógio para acomodação do lodo em camadas finas. O procedimento foi realizado após a etapa de ultrassom.

Assim, com a ajuda de garras para sustentação, a lâmpada germicida foi posicionada em suspensão acima da amostra, em uma distância máxima de 30 cm. Seguindo a metodologia apresentada por Cui *et al.* (2011), deixou-se a amostra de espuma de esgoto em exposição, por 20 minutos, havendo revolvimento a partir de 10 minutos de radiação.

III.1.3 Secagem Térmica

A etapa de desinfecção por secagem térmica foi realizada após procedimento de ultrassom e irradiação por luz ultravioleta, utilizando-se uma estufa Biopar, modelo S150S, am.7,27.

De acordo com a metodologia proposta em Olkiewicz *et al.* (2014), a secagem térmica das amostras foi realizada em estufa pré-aquecida, em temperatura de 105 °C, onde permaneceram por 48 horas. Após o resfriamento, as amostras foram maceradas em almofariz e armazenadas em frascos, sob refrigeração, para posterior extração, purificação e caracterização dos lipídios presentes na espuma de esgoto.

III.2 Caracterização do Lodo de Esgoto e Parâmetros de Estabilização

Segundo a determinação seguida pela Norma Americana 40 CFR – Part 503, o lodo e espuma de esgoto podem ser caracterizados a partir de parâmetros de estabilizações, dentre os quais, podemos citar, redução de patógenos, redução de sólidos voláteis e teor de cinzas.

III.2.1 Análise Microbiológica do Lodo de Esgoto Após Desinfecção

A realização da análise microbiológica foi executada no Laboratório Ambiental – LABSAM, efetuada pela técnica de membranas filtrantes, por meio dos métodos SM 9222 de Standard Methods for Examination of Water and Wastewater - 22th Edition e, também, metodologia para contagem, conforme indicada no Guia de Interpretação – 3M Petrifilm. A análise ocorreu com a contagem de UFC/g de amostra de lodo seco, e teve a duração de 48 horas.

III.2.2 Análises de Sólidos Suspensos Totais

A análise de Sólidos Suspensos Totais foi realizada seguindo a metodologia para Análise de Sólidos, descrita em Standard Methods para a análise de água e esgoto, (SMWW, 1995). Assim, colocou-se um filtro de fibra de vidro em um funil acoplado em aparelho de sucção, com bomba a vácuo ligada. Foram realizadas três lavagens sucessivas com 20 mL de água deionizada e, em seguida, o filtro foi levado para secagem em estufa a 110 °C, por 1 hora, e após, em mufla a 550 °C, por 30 minutos. Após o resfriamento obteve-se a massa do filtro (P1). Em seguida, colocou-se o filtro novamente no aparelho de sucção, em que foram filtrados 10 mL da amostra homogeneizada, sendo em seguida, levado à estufa 110 °C, por 12 horas, quando, após resfriamento, foi obtido, por pesagem do filtro, o valor P2. O valor de SST foi obtido a partir da seguinte relação:

$$SST(mg/L) = \frac{(P2-P1) \times 1.000.000}{Va}, \quad (1)$$

sendo que:

Va é o volume da amostra (mL)

III.2.3 Análises de Sólidos Suspensos Fixos e Voláteis

A torta contida no filtro seco, conforme obtida anteriormente, foi calcinada em mufla, durante 1 hora, a 550 °C, sendo obtido por pesagem, após resfriamento, o valor de P3. Os valores de SSF e SSV foram determinados a partir das seguintes relações:

$$SSF(mg/L) = \frac{(P3-P1) \times 1.000.000}{Va} \quad (2)$$

sendo que:

Va é o volume da amostra (mL)

$$SSV(mg/L) = \frac{(P2-P3) \times 1.000.000}{Va} \quad (3)$$

sendo que:

Va é o volume da amostra (mL)

III.3 Extração e Purificação do Extrato Lipídico de Lodo de Esgoto

Para a extração dos lipídios presentes no lodo de esgoto, foram testadas três metodologias e, posteriormente, foi escolhida a metodologia que permitiu a extração de maior quantidade de lipídios.

III.3.1 Extração com Hexano

A primeira extração foi realizada seguindo a metodologia proposta por Pokoo-Aikins *et al.* (2010), na qual a amostra de lodo de esgoto foi homogeneizada com bastão de vidro. Assim, foram recolhidas 10 g de amostra em um béquer, sendo acrescentas 50 mL de solvente orgânico Hexano P.A. A suspensão foi colocada em agitação magnética a 180 rpm, dentro de uma capela com exaustão constante, por 8 horas. Em seguida, a amostra foi transferida para um balão de separação, para a separação de fases por gravidade, por 12 horas. O sobrenadante foi, então, recolhido em um frasco Erlenmeyer com o auxílio de uma pipeta, sendo recuperado o solvente por evaporador rotativo a vácuo e envolvido por papel escuro (craft), sendo armazenado em geladeira. Para a amostra decantada no funil de separação, o procedimento de extração foi repetido mais duas vezes, adicionando-se 50 mL de hexano, para obtenção dos lipídios restantes, seguindo os mesmos procedimentos de agitação por 8 horas e decantação por 12 horas. Após a retirada do sobrenadante, o material graxo extraído, proveniente das três etapas de extração foram juntadas, e a amostra foi acondicionada em balão de massa conhecida e submetida à recuperação do solvente, por evaporação em evaporador rotativo Fisatom, modelo 803, na temperatura aproximada de 70 °C, com velocidade de rotação de 43 rpm e sob vácuo de 200/300 mmHg, com coluna de resfriamento a 10 °C. Após resfriamento, a matéria graxa extraída foi quantificada em balança analítica. Este procedimento foi realizado em triplicata.

III.3.2 Extração por Bligh e Dyer

Este ensaio de extração seguiu a metodologia de Bligh e Dyer (1959), adaptada por Barros *et al.* (2015), sendo utilizados água destilada, clorofórmio e etanol em substituição ao metanol.

A metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959), conta com a utilização de uma mistura de solventes polares e apolares. Os solventes polares têm maior afinidade com os fosfolipídios presentes na parede celular dos microrganismos, promovendo a extração destes lipídios, e, por meio de solventes apolares, facilita a extração dos lipídios presentes no meio intracelular. Assim sendo, ao lodo de esgoto que apresentar uma maior quantidade de microrganismos, poderá ser extraído lipídios intra e extracelulares, apresentando um teor de lipídios maior utilizando este método de extração, em decorrência da mistura de solventes.

Desse modo, para a extração, foram pesadas 50 g de amostra seca, sendo adicionado água deionizada na proporção de 80 % da massa da amostra, aproximadamente 40,0125 g, e homogeneizados com um bastão. Em seguida, foram acrescentados 50 mL de clorofórmio e 100 mL de etanol, e, a amostra então, seguiu para homogeneização com barra magnética e agitação constante, por 2 minutos, quando foram inseridos mais 50 mL de clorofórmio. Após a homogeneização, foram adicionados 50 mL de água deionizada, por 30 segundos, sofrendo agitação por mais 30 segundos. Por conseguinte, a amostra foi colocada em um funil de Büchner, com filtro de filtragem rápida, sob vácuo, sendo o filtrado depositado em proveta graduada, para separação de fases. A torta do filtrado foi homogeneizada com a adição de 50 mL de clorofórmio e filtrada novamente. A lavagem do filtro foi realizada com mais 25 mL de clorofórmio, para retirada de excedente. Os resíduos filtrados foram juntados para separação de fases. A seguir, a parte superior, que contém a camada alcóolica, água e componentes não lipídicos, foi recolhida, deixando-se uma borda, para evitar a contaminação de compostos não desejados na fase de interesse. Após o período de separação e recuperação do solvente por evaporação, a amostra foi pesada. O procedimento foi realizado em triplicata.

III.3.3 Extração por Soxhlet

Para a extração utilizando a metodologia de Soxhlet, pesaram-se aproximadamente 10 g de amostra seca e triturada. Em um aparelho Soxhlet, com coluna de resfriamento e balão contendo 250 mL de hexano, imerso em banho com água a 70 °C, foi colocada a amostra envolta em papel filtro quantitativo para filtração lenta. A extração se deu por um período de 10 horas. Após este período, a amostra foi colocada em balão de massa conhecida, para a recuperação de solvente em evaporador rotativo a vácuo e quantificação dos lipídios extraídos. Para a confirmação do resultado, as extrações foram realizadas em triplicata.

III.3.4 Lavagem e Filtração do Extrato Lipídico de Lodo de Esgoto

Após a extração da matéria graxa, os lipídios foram purificados para remoção de compostos indesejáveis à reação de transesterificação, tais como fosfolipídios, glicolipídios, esteróis, entre outros. Desta forma, as amostras de lipídios totais extraídos do lodo de esgoto seco, foram lavadas, sob agitação, com solvente orgânico e água. Para isto, em um balão contendo os lipídios totais, seguindo a razão de diluição de lipídios, água e solvente na proporção de 1:5:50 (m/v/v), adicionaram-se 10 mL de água deionizada aquecida, sendo levada à agitação. A esta suspensão, foram adicionados 30 mL de hexano e, posteriormente, 20 mL de hexano utilizado na lavagem de vidrarias, mantendo a agitação por 3 minutos. A suspensão foi colocada em funil de separação para decantação das impurezas e separação de lipídios com o solvente, mantendo-se na camada superior. Assim, os lipídios dissolvidos foram recolhidos e a mistura foi evaporada, para recuperação do solvente. Ao extrato obtido, adicionaram-se 100 mL de água quente e 200 mL de hexano e submeteu-se a suspensão à agitação. Ao final, colocou-se a suspensão em funil para separação de fases. A fase de solvente foi recolhida e realizada novamente a evaporação para recuperação do solvente hexano.

Para a purificação final dos lipídios extraídos, seguiu-se a metodologia proposta por Branco (2013). Desta forma, as amostras obtidas foram submetidas à filtração em coluna de carvão de osso, para um processo de adsorção seletiva em coluna de leito fixo. O leito foi recheado com carvão granulado com diâmetro de 28 mesh,

cedido pela empresa Bonechar Carvão do Brasil LTDA. Utilizou-se uma coluna de vidro de aproximadamente 30 cm de altura, contendo 6 g de carvão ativado. Para a adsorção, as amostras foram pesadas e dissolvidas em hexano na proporção 1:50 (m/v), e percoladas na coluna. O líquido contendo os lipídios purificados foi recolhido em balão de massa conhecida e, sucessivamente, houve a recuperação do solvente e pesagem da amostra final purificada. O resultado foi expresso em mg/g de lipídios neutros.

III.4 Caracterização do Extrato Lipídico

Para a caracterização dos lipídios neutros obtidos, foram realizadas as determinações de Índice de Acidez, Índice de matéria Saponificável, Matéria Insaponificável, Índice de Peróxidos, Umidade e Composição em Ácidos Graxos. Todas as análises foram realizadas a partir dos lipídios neutros extraídos pela metodologia Soxhlet e após procedimento de purificação.

III.4.1 Determinação do Índice de Acidez e Teor de Ácidos Graxos Livres

O valor de acidez pode ser obtido a partir da determinação do teor (%) do maior ácido graxo contido, por grama de amostra. Sendo assim, determina-se o valor de acidez como percentual de ácido graxo livre, segundo a normativa AOCS –Ca-5-40. Já para o índice de acidez, que determina o valor em mg de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos graxos em 1 g de amostra de teste, a normativa determina que o resultado, em % de ácido graxo, seja multiplicado por 1,99. A análise também pode ser baseada na norma AOCS Te 1a-64.

Cabe ressaltar que a percentagem de ácidos graxos livres, na maioria dos tipos de gorduras e óleos, é comumente calculada como ácido oleico, embora, por exemplo, em óleo de palma, que tem maior quantidade de C16:00, esta seja determinada em termos de ácido palmítico (AOCS Ca-5a-40).

Seguindo as normativas acima mencionadas, para as análises foram necessárias uma solução padronizada de NaOH 0,5 mol/L, feita com água deionizada, uma solução

indicadora de Fenolftaleína 1,0 % em 95 % de álcool e uma solução álcool etílico – éter de petróleo na razão 1:2. As análises ocorreram somente em amostras purificadas e foram realizadas em triplicata.

Dessa forma, as quantidades aproximadas de 0,5 g de amostra de lipídios neutros extraído foram pesadas em Erlenmeyers de 50 mL, aos quais foram adicionados 25 mL de solução álcool – éter, seguido de 3 gotas de solução indicadora Fenolftaleína. Como a amostra possui cor escura, houve dificuldade de observação e identificação visual da coloração de viragem durante a análise, sendo necessária a adaptação da solução, aumentando a diluição da amostra. O valor em mL titulado foi considerado somente após a alteração de coloração permanente superior a 30 segundos. As expressões utilizadas para determinação dos valores são descritas a seguir.

Assim, o teor de ácido graxo livre é dado por:

$$AGL \text{ como ácido oleico (\%)} = \frac{\text{volume titulado, em mL} \times M \times 28,2}{\text{massa da amostra, em g}} \quad (4)$$

$$AGL \text{ como ácido láurico (\%)} = \frac{\text{volume titulado, em mL} \times M \times 20,0}{\text{massa da amostra, em g}} \quad (5)$$

$$AGL \text{ como ácido palmítico (\%)} = \frac{\text{volume titulado, em mL} \times M \times 25,6}{\text{massa da amostra, em g}} \quad (6)$$

O cálculo de índice de acidez expresso em mg de KOH necessário para neutralizar 1 grama de ácido graxo é realizado como:

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{\text{volume titulado, em mL} \times M \times 56,10}{\text{massa da amostra, em g}} \quad (7)$$

sendo que:

56,10 corresponde à massa molar de KOH;

M é o fator de padronização da solução titulante, 0,5 m/L;

III.4.2 Teor de Umidade

A análise para determinação do teor de umidade foi efetuada em aparelho medidor Karl Fisher Coulométrico 899. A verificação realizada se baseia na reação de oxido/redução, que estabelece uma relação estequiométrica entre o iodo e a água presente na amostra analisada. A reação pode ser expressa como (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 1985):



Anteriormente à análise, a amostra foi seca em estufa a 45 °C, por 2 horas. Em sequência, o extrato lipídico seco foi, então, diluído em solvente hexano e, com o auxílio de uma seringa, foi realizada a injeção da amostra no aparelho.

A análise de medição de umidade utiliza o valor da massa injetada no sistema reacional. Por este motivo, a massa da amostra e a seringa utilizada, foram determinadas antes e após a injeção.

Também foi realizada a análise de branco, somente com o solvente, o qual foi levado em consideração na determinação da umidade.

O resultado foi expresso em Teor de água, massa de água por massa de amostra, e, também, em partes por milhão (ppm).

A análise foi realizada em triplicata.

III.4.3 Determinação do Índice de Saponificação

O índice de saponificação é a quantidade de álcali necessário para saponificar uma quantidade definida de amostra. Este método é aplicável a todos os óleos e

gorduras e expressa o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar um grama de amostra (Adolf Lutz, 1985).

O valor obtido indica indiretamente a quantidade, em massa de ácidos graxos, obtidos após a saponificação, pois é inversamente proporcional à massa molar média dos ácidos graxos dos glicerídeos presentes.

Seguindo a metodologia descrita em Instituto Adolfo Lutz (1985), 328/IV, primeiramente é necessário pesar em um balão, cerca de 100 mg da amostra e dissolver em 10 mL de solução de hidróxido de potássio. Também, é necessário preparar um branco, que deve ser analisado simultaneamente com a amostra. Assim, deve-se conectar o condensador ao balão, deixando-se ferver suavemente até a completa saponificação da amostra. Após o resfriamento do frasco, lava-se a parte interna do condensador com um pouco de água. O balão é, então, desconectado do condensador, adicionando-se 1 mL do indicador e prosseguindo com a titulação com solução de ácido clorídrico 0,5 mol/L até completo desaparecimento da cor rósea. O valor titulado deve ser anotado para posterior cálculo. Assim, a diferença entre o resultado do branco e o utilizado na amostra aponta a quantidade de hidróxido de potássio utilizado na saponificação do óleo.

$$\text{Índice de Saponificação} = \frac{28,06 \times f \times (B - A)}{P} \quad (9)$$

sendo que:

A é o volume gasto na titulação da amostra (mL);

B é o volume gasto na titulação do branco (mL);

f é o fator da solução de HCl 0,5 mol/L;

P é a massa da amostra (g).

III.4.4 Determinação de Matéria Insaponificável

A matéria insaponificável inclui lipídeos de origem natural, tais como esteróis, hidrocarbonetos, álcoois alifáticos e terpênicos, pigmentos, bem como qualquer matéria orgânica extraída por solvente e não volátil a 103 °C, dentre eles os óleos minerais, que

podem estar presentes, mesmo não contendo ácidos graxos em sua composição (ET ISO -18.609 – 2012). Cabe ressaltar que, a determinação de matéria insaponificável aponta o índice de componentes que não farão reações de esterificações e transesterificações, sendo importante para a estimativa do rendimento em ésteres, por exemplo.

De acordo com a metodologia ET ISO -18.609 – 2012, em um balão de fundo redondo de 250 mL, foram pesados 5 g de amostra dos lipídios neutros extraídos do lodo de esgoto seco, adicionando-se 50 mL de solução etanólica de hidróxido de potássio de concentração 1 mol/L. O balão foi levado para um banho de água quente, em temperatura de fervura, com vidraria de condensação e extrator Soxhlet acoplados no balão, sendo que a reação permaneceu pelo período de uma hora. Após resfriamento, lavou-se a torre de condensação com 50 mL de água deionizada e, após agitação, a reação foi acondicionada em funil de separação. A vidraria utilizada foi lavada com 50 mL de hexano e este adicionado juntamente com todo o volume reacional, permanecendo em repouso, após a agitação, até separação de fases. Após completa separação, a fase aquosa de solução etanólica, que permaneceu na camada inferior no funil, foi recolhida e armazenada. A parte superior foi transferida para um segundo funil de separação, sendo lavada por mais duas vezes, com 50 mL de hexano. A fase aquosa de solução etanólica foi esgotada e a parte superior armazenada no primeiro funil de separação, juntamente com a fase separada anteriormente. A camada com hexano foi lavada, no mínimo 3 vezes, com 25 mL de solução 1:9 (v/v) de etanol e água, sendo agitada por 1 minuto e colocada em repouso para separação de fases. A fase de saponificação foi a camada estabelecida no fundo do funil de separação, sendo esta, descartada. A operação de lavagem com solução de etanol e água foi repetida até que a fase descartada, após 2 gotas de solução de Fenolftaleína, não apresentasse mais coloração rosada. A fase de hexano foi, então, submetida à recuperação de solvente por evaporação a vácuo e banho quente na temperatura de fervura e, em seguida, o balão foi colocado em estufa a 103 °C, por 15 minutos, e posteriormente, resfriado em dessecador a vácuo, para verificação da massa residual. Os resultados foram expressos em matéria insaponificável contida, como percentual por massa de amostra, pela expressão a seguir:

$$\text{Matéria Insaponificável (\%)} = \frac{100 (m_1 - m_2 - m_3)}{m_0} \quad (10)$$

sendo que:

m_1 é a massa do resíduo (g);

m_2 é a massa do resíduo obtido com o branco (g);

m_3 é a massa do ácido graxo livre. Caso haja AGL na amostra, o valor de m_3 deverá ser calculado como $0,28 \times V \times C$;

m_0 é a massa da porção de teste (g);

V é o volume da solução etanólica de hidróxido de potássio padronizada usada para titulação (mL);

C é a concentração exata (mol/L) da solução etanólica de hidróxido de potássio padronizada.

III.4.5 Determinação do Índice de Peróxido

Para esta análise foram utilizadas amostras dos lipídios neutros extraídos do lodo de esgoto. Às amostras foram adicionados 30 mL da solução de ácido-clorofórmio e 0,5 mL da solução saturada de iodeto de potássio. A solução foi deixada em repouso por 5 minutos ao abrigo da luz. Com uma proveta, 30 mL de água destilada foram adicionados, assim como 1 mL da solução do indicador amido 1 %. A amostra foi titulada utilizando-se tiossulfato de sódio até o desaparecimento da cor castanho-claro. O volume da solução de tiossulfato foi anotado para posterior cálculo (AOAC, 1997).

O cálculo do Índice de Peróxido (IP) pode ser determinado a partir da expressão:

$$\text{Índice de Peróxido (meq / kg)} = \frac{[(V_a - V_b) \times N \times 1000]}{P} \quad (11)$$

sendo que:

V_a é o volume da solução de tiossulfato gasto na titulação da amostra (mL);

V_b é o volume da solução de tiossulfato gasto na titulação do branco (padrão) (mL);

N é a normalidade da solução de tiossulfato (0,1 mol/L);

P é a massa da amostra (g).

III.4.6 Determinação da Composição em Ácidos Graxos dos Lipídios Extraídos do Lodo de Esgoto

A determinação da composição em ácidos graxos presentes em óleos pode ser feita por análises, como, por exemplo, a cromatografia em fase gasosa, em que ocorre o processo de separação de compostos voláteis da mistura, que se movem pela coluna de cromatografia, carregados por um gás inerte, de arraste. A determinação de ácidos graxos se dá pelo aparecimento de picos de acordo com o tempo de retenção na coluna, diretamente relacionados com o tamanho da cadeia molecular analisada. Alguns lipídios são naturalmente voláteis, porém, outros têm a necessidade de serem convertidos em compostos mais voláteis, por processo de derivatização, em que os ácidos graxos esterificados são convertidos em ésteres metílicos, conhecido como processo de transesterificação (NELSON e COX, 2002). Devido ao alto índice de acidez apresentado pelos lipídios extraídos do lodo de esgoto, utilizou-se a metodologia de esterificação de lipídeos (HARTMANN e LAGO, 1973), conforme descrita a seguir.

Pesaram-se entre 30 e 100 mg da amostra de lipídios utilizando-se tubos de ensaio de 30 mL com tampa. Adicionaram-se 3 mL de n-hexano para solubilizar a amostra. Adicionaram-se 4 mL de solução 0,5 mol/L de NaOH. O tubo foi fechado e aquecido em banho de água quente, com temperatura entre 65 – 70 °C, até a dissolução dos glóbulos de gordura e a solução ficar transparente (3 - 5 min). Esfriou-se o tubo sob água corrente e, em seguida, adicionaram-se 5 mL da solução esterificante, fechando e agitando-se o tubo por 30 s. Aqueceu-se novamente em banho de água quente, em temperatura entre 65 e 70 °C, por 5 min., prosseguindo com resfriamento do tubo sob água corrente o mais rápido possível. Adicionaram-se 4 mL de solução saturada de NaCl, sendo o tubo agitado vigorosamente por 30 s. Adicionaram-se 3 mL de n-hexano, agitando-se o tubo vigorosamente por 30 s. Deixou-se separar as fases com o tubo em repouso por aproximadamente 90 min., na geladeira. A fase superior foi utilizada para a análise da composição em ácidos graxos por cromatografia em fase gasosa.

Depois de realizada a derivatização e obtenção dos ésteres, foi pipetado 1 mL do sobrenadante e submetido à análise por Cromatografia a gás. A análise da composição em ácidos graxos foi realizada antes e após a purificação em coluna de carvão e nas três extrações diferentes. Os cromatogramas obtidos foram comparados

com um padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos (Fatty Acid Methyl Esters, SUPELCO), para identificação dos ácidos graxos presentes.

A composição em ácidos graxos foi determinada de acordo com a relação descrita por Hartman e Lago (1973):

$$\text{Ácido graxo X (\%)} = \frac{A_x}{A_T} \times 100 \quad (11)$$

sendo que:

A_x é a área do pico que representa um determinado ácido graxo X;

A_T é a soma de todas as áreas obtidas no cromatograma.

Com base na área expressa no cromatograma, utilizou-se a relação adaptada de Fillières *et al.* (1995), para o cálculo da massa molar da matéria graxa, como:

$$MM_o = 0,56 \times (3 \times \sum MM \text{ a.g.} + MM \text{ glic.} - 3 MM H_2O) + 0,44 \times \sum MM \text{ a.g.} \quad (13)$$

sendo que:

0,56 e 0,44 são as frações mássicas de triacilglicerol e de ácidos graxos livres, respectivamente, presentes na amostra determinada a partir da porcentagem de ácido palmítico obtido na determinação de ácido graxo livre;

$MM \text{ a.g.}$ é a massa molar de cada ácido graxo livre, multiplicado pela porcentagem de ácido graxo determinado pela derivatização;

$MM \text{ glic.}$ é a massa molar do glicerol (87 g/mol);

$MM H_2O$ é a massa molar da água (18 g/mol).

III.5 Produção de ésteres

III.5.1 Transesterificação *in situ*

A produção dos ésteres metílicos a partir dos lipídios de lodo de esgoto foi realizada a partir da transesterificação *in situ*, ou seja, com o lodo de esgoto após processo de desinfecção e secagem.

As condições reacionais foram seguidas de acordo com a metodologia descrita por Gerhard *et al.* (2015), que se baseou na metodologia proposta por Pastore *et al.* (2013), adotando a transesterificação ácida, com a utilização de H_2SO_4 como catalisador. Desse modo, em um balão de 3 bocas de 500 mL, pesaram-se 4 gramas de lodo de esgoto seco e triturado. Em seguida, foram adicionados 80 mL de metanol, na proporção lodo : álcool de 1:20 (kg /L). Adicionou-se, então, 250 mL do catalisador ácido H_2SO_4 (98 %). Colocou-se uma barra de agitação magnética para agitação constante da reação. As bocas foram devidamente fechadas com rolha de borracha, sendo uma destas, perfurada por agulha grande para retirada de alíquotas para análise da reação. À boca central do balão foi conectado um condensador, sendo este, resfriado com água a 10 °C, com circulação constante.

O sistema reacional foi colocado em banho de água quente a 55 °C, com agitação constante por barra magnética. A reação foi realizada por um período de 6 horas.

Para estudar a cinética de reação, amostras da mistura reacional foram retiradas em tempos de reação pré-estabelecidos e analisadas por cromatografia em fase gasosa.

III.5.2 Identificação e Quantificação dos Ésteres Obtidos

Para a análise de identificação e quantificação de ésteres metílicos obtidos pela transesterificação *in situ* do lodo de esgoto, foi realizada a coleta de amostras por meio de uma seringa previamente disposta na rolha de borracha, conforme descrito anteriormente. A preparação da amostra para a análise cromatográfica seguiu a metodologia descrita por Michelin *et al.* (2015), na qual 1 mL da solução coletada foi disposta em tubo de ensaio. Em seguida, adicionaram-se 5 mL de água deionizada e 1 mL de hexano, sendo o tubo agitado vigorosamente e submetido à centrifugação, em velocidade de 5000 rpm, por 15 minutos. Após a separação de fases por centrifugação, coletou-se aproximadamente 1 mL da fase sobrenadante, que foi inserido em vial

previamente pesado, e disposto em estufa a 60 °C, para evaporação de solventes, por 12 horas.

No vial, após secagem do solvente, permaneceram apenas os ésteres metílicos provenientes da reação realizada, sendo pesado para quantificação posterior dos mesmos. À este vial, foi adicionado 0,2 mL de padrão interno – PI (composto de ésteres metílicos de ácido heptadecanóico -C17:0, de concentração conhecida, adquirido da Sigma-Aldrich) e 1 mL de hexano, sendo, então, os ésteres metílicos, submetidos à análise por cromatografia em fase gasosa.

Para que os ésteres metílicos da amostra fossem identificados, as análises cromatográficas foram realizadas em Cromatógrafo Shimatzu, modelo CG – 2010 Plus, com injetor automático AOC 20i, com detector de ionização de chama (DIC). Foi utilizada uma coluna capilar específica para separação de ácidos graxos BP - X70 - SGE de 30 m x 0,25 mm. O equipamento utilizou o hélio como gás de arraste, numa razão *split* de 1:10. A programação de temperatura da coluna foi realizada iniciando-se em 150 °C, com aquecimento até 230 °C a uma taxa de 3 °C/min. A temperatura do detector foi de 280 °C e do injetor de 260 °C.

A partir da análise dos cromatogramas obtidos, foi possível identificar, por meio da comparação dos tempos de retenção na coluna com valores pré-estabelecidos, os respectivos ésteres metílicos presentes na amostra. Já para quantificar os produtos da reação, utilizou-se a metodologia de padronização interna, conforme descrita por Visentainer e Franco (2006).

As massas de ésteres metílicos contidas nas amostras coletadas foram determinadas conforme:

$$m_x = \frac{m_p * A_x * F_{CT}}{A_p * m_{LT}} \quad (14)$$

sendo que:

m_x é a massa do ácido graxo x na amostra analisada de lipídeos totais (g de ésteres metílicos por g⁻¹ de lipídeos totais);

m_p é a massa do padrão (g);

m_{LT} é a massa de lipídeos totais (g)

A_x é a área no cromatograma relativa ao ácido graxo x na amostra analisada,

F_{CT} é o fator de correção teórico de cada éster;

A_p é a área no cromatograma relativa ao padrão interno na amostra analisada.

Dessa forma, foi obtida a quantidade de ésteres metílicos produzido por grama de lipídeos totais. Os fatores de correção teórico dos diferentes ésteres identificados foram baseados nos valores apresentados por Visentainer (2012), que apresentam os fatores de correção para diferentes ésteres metílicos de ácidos graxos com variados PI.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 Caracterização do Lodo de Esgoto e Parâmetros de Estabilização

Baseado nos resultados descritos por vários autores sobre a quantidade de matéria graxa presente no lodo de esgoto doméstico, destaca-se os trabalhos de Siddiquee e Rohani (2011) e Olkiewicz *et al.* (2014), que relataram que o lodo de esgoto é composto de 2 a 30% de lipídios, que podem ser convertidos em ésteres metílicos. Assim, o lodo de esgoto foi coletado no leito de secagem, após estabilização microbiológica, e submetida a processos de ultrassom, irradiação de luz ultravioleta e secagem térmica.

Após este procedimento, o material coletado foi homogeneizado por maceração em almofariz de fundo áspero até a obtenção de um pó particulado, conforme mostrado na Figura IV.1. A amostra de lodo homogeneizado foi armazenada em geladeira até a utilização.



Figura IV.1 - Material após secagem e homogeneização/maceração

IV.1.1 Análise Microbiológica do Lodo de Esgoto Após Desinfecção

A análise realizada para contagem de microrganismos coliformes totais e *Escherichia coli*, realizada pelo laboratório LABSAM, por meio da metodologia de membranas filtrantes, apresentou resultados eficientes da desinfecção, mostrando-se resultados abaixo de 1 UFC / g de lodo seco (Anexo 1). Embora o limite determinado pela resolução 375/06 do CONAMA sejam referentes à aplicações de lodo na agricultura, sendo vetando a utilização de material sobrenadante dos reatores, os parâmetros adotados neste trabalho se baseia na mesma normativa, uma vez que há a necessidade de análise de redução de microrganismos. O limite estabelecido pela resolução 375/06 do CONAMA determina que a densidade de coliformes seja inferior a 10^3 NMP/g (Número Mais Provável por grama de Sólidos Totais) ou 2×10^6 UFC/g ST (Unidades Formadoras de Colônias por grama de Sólidos Totais). Portanto, pode-se considerar que após o processo de desinfecção realizado, o lodo de esgoto pôde ser considerado estável e, portanto, manipulado com segurança.

IV.1.2 Análise de Sólidos

Para a realização da análise de sólidos, foi utilizado o lodo de esgoto coletado no leito de secagem, após tratamento de desinfecção, conforme descrito no capítulo anterior.

Para a determinação dos parâmetros Sólidos Suspensos Totais (SST), Fixos (SSF) e Voláteis (SSV), a pesagem do filtro mostrou uma massa de 0,115 g (P1), com a massa da torta obtida com a filtração da amostra líquida (Figura IV.2) de 1,856 g. Após secagem em forno a 110 °C, o valor obtido foi de 0,672 g (P2). O valor da massa obtida após a secagem em forno a 550 °C foi de 0,260 g (P3). Assim, a partir das equações (1), (2) e (3), foram determinados os valores de sólidos suspensos totais (SST) de 55,640 mg/L, sólidos suspensos fixos (SSF) de 14,470 mg/L e sólidos suspensos voláteis (SSV) de 41,170 mg/L, respectivamente.

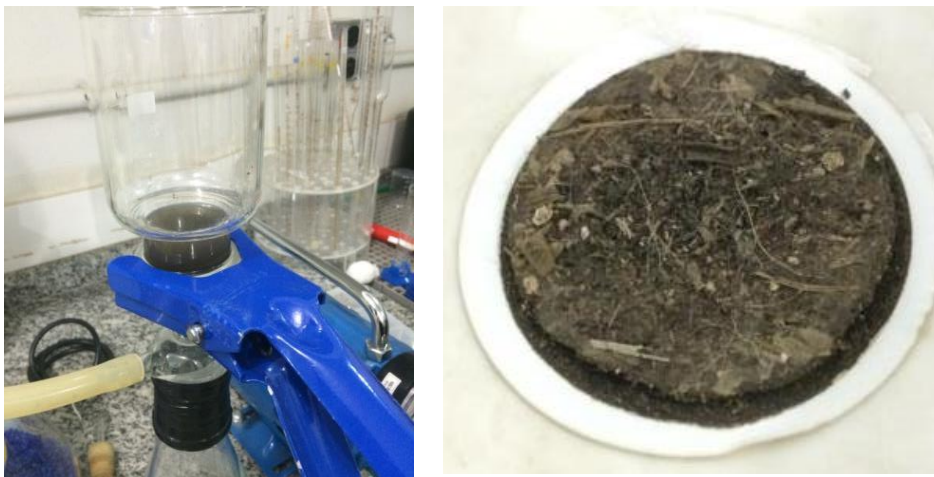


Figura IV.2 Filtração da solução de espuma de esgoto e água deionizada para análise de sólidos e torta após a filtração.

Com base nestes valores, pode-se concluir que a amostra de espuma de esgoto tratada era composta por 39% de sólidos fixos e 61% de matéria orgânica volátil. Dessa forma, o resultado do percentual de matéria orgânica na espuma de esgoto tratada está condizente com os valores apresentados por Tyagi e Lo (2013), que descrevem que o lodo de esgoto possui entre 59% - 88% de matéria orgânica, sendo, portanto, a grande quantidade de matéria orgânica, traduzida numa maior quantidade de ésteres a serem extraídos.

IV.2 Extração e Purificação do Extrato Lipídico de Lodo de Esgoto

As etapas de extração da matéria graxa do lodo de esgoto por solvente orgânico hexano a 25 °C são ilustradas na Figura IV.3.

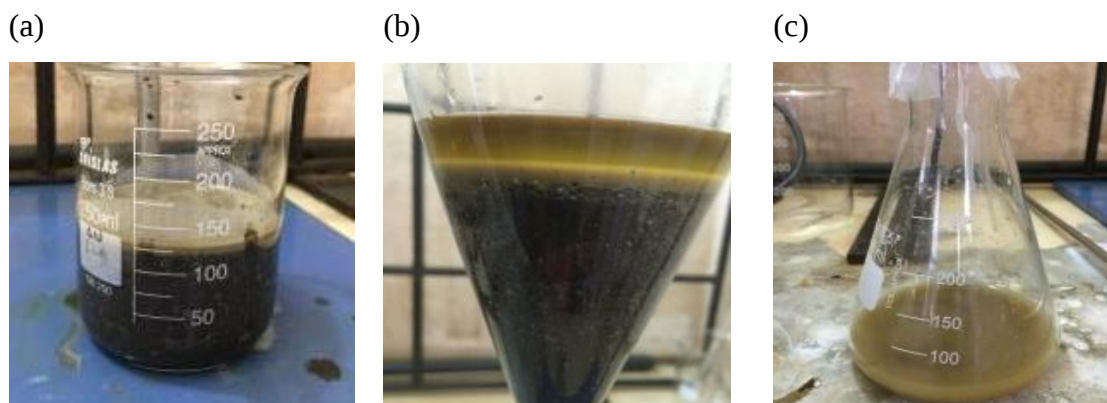


Figura IV.3 – (a) Extração com hexano 25 °C, (b) Separação da camada lipídica, (c) Extrato lipídico.

Posteriormente à recuperação do solvente por evaporação, a quantidade de lipídios totais obtidos do lodo de esgoto seco foi de $13,33 \pm 0,47$ % (g/g). Na metodologia proposta por Pokoo-Aikins *et al.* (2010), a extração com o solvente hexano removeu 3,4 % de lipídios do lodo de esgoto na extração, sendo inferior ao valor observado no presente trabalho. A diferença no valor extraído pode estar relacionada à qualidade do lodo de esgoto, de acordo com a população, que pode variar até mesmo em relação aos dias da semana.

No presente estudo, a segunda metodologia utilizada para a extração de lipídios do lodo de esgoto foi a extração seguindo a metodologia de Bligh Dyer (1959), adaptada por Barros (2015), conforme descrita na seção III.3.2., e pôde-se obter $17,66 \pm 5,31$ % (g/g) de lipídios do lodo de esgoto seco (Figura IV.4).

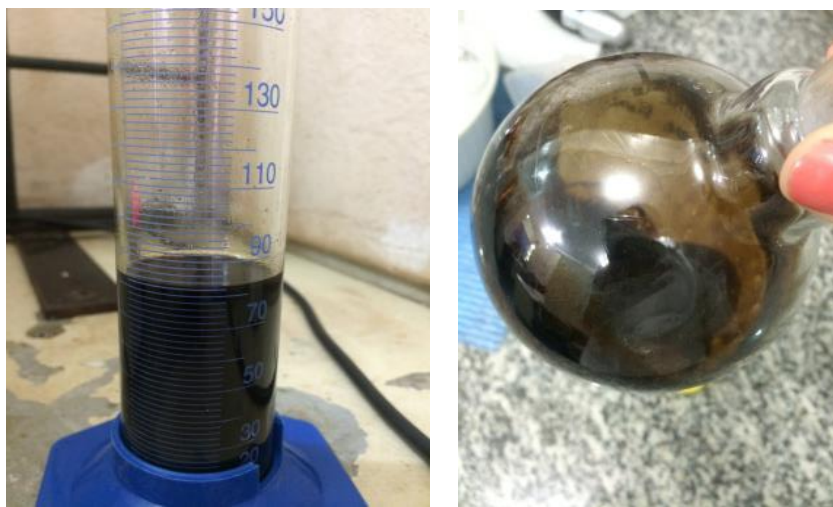


Figura IV.4 - Extração de lipídios da espuma de esgoto seca, pelo método adaptado de Bligh e Dyer (1959).

Autores como Gerhard *et al.* (2015) também optaram pela extração dos lipídios pela metodologia de Bligh e Dyer (1959) e obtiveram $44,4 \pm 2,0$ % (g/g) de óleos e graxas extraídos da espuma do esgoto e $5,3 \pm 0,2$ % do lodo secundário.

Os valores ora encontrados são inferiores aos obtidos por Gerhard *et al.* (2015), porém, deve-se ressaltar que a qualidade do esgoto, além do modo de operação do processo de tratamento, pode ser diferente de um local para o outro, o que implica diretamente na quantidade de microrganismos que compõe o lodo durante o tratamento, bem como nos lipídios presentes e, conseqüentemente, na quantidade de lipídios extraídos por este método.

A terceira metodologia abordada foi realizada pelo método estabelecido por Soxhlet (1879), na qual a amostra sofre lavagens cíclicas decorrentes do extrator acoplado ao balão, de forma sucessiva e com solvente sempre limpo. No presente trabalho, obteve-se $26,96 \pm 2,40$ % (g/g) de lipídios totais extraídos do lodo de esgoto seco (Figura IV.5). Esta metodologia também foi utilizada por Olkiewicz *et al.* (2015), sendo obtido $27,2 \pm 0,4$ % (g/g) de lipídios totais.



Figura IV.5 – Extração de lipídios do lodo de esgoto seco, pelo método Soxhlet.

Os resultados encontrados por meio da extração utilizando a metodologia de Soxhlet apresentam valores semelhantes aos obtidos por Olkiewicz. Porém, o valor obtido é menor do que o obtido por Gerhard *et al.* (2015) utilizando Bligh e Dyer ($44,4 \pm 2,0$ % (g/g)).

Segundo Siddiquee e Rohani (2011), a temperatura é um dos principais aspectos de relevância na reação com hexano, visto que devido à natureza não-reativa e tamanho molecular do hexano, há uma dificuldade de resposta rápida da reação. Outra problemática apontada por Dufreche *et al.* (2007) é que o hexano não possui força polar e, por este motivo, não consegue reagir com os lipídios da camada celular presente nos microrganismos, reagindo apenas com os lipídios dispersos no meio reacional.

Os rendimentos em lipídios totais extraídos pelos três diferentes métodos de extrações empregados são apresentados na Tabela IV.1.

Tabela IV. 1 – Resultados obtidos com diferentes metodologias de extração de lipídios de lodo de esgoto seco.

Método de Extração	Ensaio (% m/m)			Média (% m/m)	Desvio Padrão (% m/m)
	1	2	3		
Hexano	13	14	13	13,33	0,47
Bligh e Dyer	24	18	11	17,66	5,31
Soxhlet	29,88	24	27	26,96	2,40

A partir dos valores de rendimentos mássicos em lipídios totais extraídos do lodo de esgoto seco, pode-se observar que a extração desenvolvida por meio da metodologia por Soxhlet apresentou os valores mais elevados ($26,96 \pm 2,40$ % g/g), além de ser condizente com a literatura. Também, utiliza-se de um único solvente, para obter a máxima extração da matéria lipídica presente, facilitando a recuperação do solvente após o procedimento de extração.

No processo de extração com solvente orgânico, é esperado que seja realizada a extração mais eficiente de acilgliceróis, também denominados de lipídios neutros. Já na extração com solventes apolares, pelo fato do solvente ser repelido pela camada celular polar, o solvente interage com os lipídios neutros, dispersos no meio reacional (BOOCOCK *et al.*, 1992). Entretanto, alguns solventes produzem coextração, carregando juntamente com os lipídios de interesse, compostos que não serão convertidos em biodiesel, como por exemplo, os lipídios brutos, que poderão ser identificados como matéria insaponificável, como é o caso do solvente hexano (DUFRECHE *et al.*, 2007).

Portanto, para realizar a purificação dos lipídios totais extraídos da espuma de esgoto seca, foi utilizada uma coluna preenchida com carvão ativado de osso, conforme mostrado na Figura IV.6. O objetivo deste processo foi eliminar componentes indesejáveis para a transesterificação, como, por exemplo, esteróis, fosfolipídios e glicolipídios, obtendo-se apenas os lipídios neutros.



Figura IV. 6 - Coluna recheada com carvão de osso utilizada na purificação dos lipídios totais extraídos do lodo de esgoto seco.

Após a adsorção em coluna de carvão ativado, o extrato lipídico contido no balão previamente tarado teve a recuperação do solvente hexano utilizado na diluição por evaporação, sendo levado para secagem de solvente residual em dessecador. A partir disso, então, pode-se determinar o valor de lipídios neutros contidos na amostra.

Todos os extratos lipídicos sofreram purificação por adsorção em coluna de leito fixo de carvão ativado. Os teores mássicos dos lipídios neutros obtidos podem ser observados na Tabela IV.2.

Tabela IV. 2– Resultado das purificações dos extratos lipídicos em coluna de leito fixo de carvão ativado.

Método de Extração	Lipídios A.P.* (g)	Lipídios D.P.** (g)	% lipídios Neutros (g/g)
Hexano	1,11	0,63	56,89
Bligh e Dyer	6,91	3,98	57,62
Soxhlet	3,03	2,18	72,11

* antes da purificação -** depois da purificação

Portanto, a partir dos resultados apresentados na Tabela IV.2, pode-se notar que dentre as extrações realizadas, a extração pela metodologia Soxhlet foi a que levou ao maior percentual de lipídios neutros no extrato lipídico de lodo de esgoto seco.

IV.3 Caracterização do Extrato Lipídico Extraído do Lodo de Esgoto

O extrato lipídico de lodo de esgoto seco foi caracterizado por diferentes técnicas, que serão descritas a seguir, a partir dos lipídios neutros obtidos após lavagem e purificação por adsorção em coluna de leito fixo de carvão ativado.

IV.3.1 Determinação do Índice de Acidez e Teor de Ácidos Graxos Livres

Com base no valor da análise do índice de acidez do extrato lipídico obtido a partir da espuma de esgoto tratada e seca, pode-se determinar a rota catalítica mais adequada para a reação de transesterificação *in situ*. Valores acima de 2 mg KOH/g de amostra sugerem relevante oxidação da matéria-prima, consequência da elevada presença de ácidos graxos livres nos óleos, que pode ser ocasionada por degradações termoxidativas e são as principais responsáveis pela modificação das características físico-químicas e organolépticas dos lipídios presentes no extrato, tornando-os escuros, viscosos e com elevada acidez. Nestas condições a indicação para a reação é via rota ácida catalítica ou neutralização do material lipídico (COSTA NETO *et al.*, 2000).

O índice de acidez do extrato lipídico obtido por extração do lodo de esgoto seco pode ser observado na Tabela IV.3 a IV.5, sendo os resultados expressos em % ácidos graxos livres (AGL) em ácido palmítico, por ser o ácido em maior quantidade, em % de ácido oleico e em quantidade de mg de KOH necessário para neutralizar 1 grama de amostra.

Tabela IV. 3 – Índice de acidez do extrato lipídico obtido por extração do lodo de esgoto seco com hexano

Acidez	Extração com Hexano		Média	Desvio Padrão
	Ensaio 1	Ensaio 2		
IA mg KOH/g am.	88,17	88,88	88,525	0,5020
% AGL em ac palmítico	40,24	40,56	40,4	0,2262
% AGL em ac. oleico	44,32	44,68	44,5	0,2545

Tabela IV. 4 – Índice de acidez do extrato lipídico obtido por extração do lodo de esgoto seco por Bligh e Dyer

Bligh e Dyer	Extração por Bligh e Dyer		Média	Desvio Padrão
	Ensaio 1	Ensaio 2		
IA mg KOH/g am.	154,39	150	152,20	3,1042
% AGL em ac palmítico	70,45	68,45	69,45	1,4142
% AGL em ac. oleico	77,61	75,40	76,51	1,5627

Tabela IV. 5 – Índice de acidez do extrato lipídico obtido por extração do lodo de esgoto seco por Soxhlet

Soxhlet	Extração por Soxhlet		Média	Desvio Padrão
	Ensaio 1	Ensaio 2		
IA mg KOH/g am.	98,25	97,28	97,77	0,6859
% AGL em ac palmítico	44,83	44,39	44,61	0,3111
% AGL em ac. oleico	49,39	48,90	49,15	0,3465

Os valores de acidez obtidos na análise dos lipídios extraídos pelo método Bligh e Dyer estão de acordo com o trabalho apresentado por Gerhard *et al.* (2015). Os autores apresentam resultados de índice de acidez de $156,6 \pm 0,0$ mg de KOH/g de amostra e % de AGL (em ácido oleico) de $78,7 \pm 0,0$.

Olkiewicz *et al.* (2015) realizou extração dos lipídios com hexano em Soxhlet e obtiveram 48,2% de AGL nos lipídios extraídos do lodo de esgoto, em consonância com os valores encontrados no presente trabalho pela mesma metodologia de extração. Já os valores obtidos na extração com hexano a frio, 44,5 % de ácidos graxos livres em ácido oleico, estão acima dos encontrados na literatura, como, por exemplo, na investigação conduzida por Melero *et al.* (2015), que encontraram 17% de ácidos graxos livres em ácido oleico na extração a frio com hexano, por 2,5 h. Esta diferença encontrada pode estar relacionada ao tempo de extração, uma vez que, no tempo de extração, 2,5 h., aplicada por Melero *et al.* (2015), foi alcançado a extração de 7,4 % de lipídios totais, enquanto no presente trabalho, os lipídios totais extraídos renderam, em média, 13 % do peso de lodo seco, em um período de 24 h.

Assim, pode-se observar que dentre as três metodologias de extração estudadas, os maiores valores relacionados à acidez e ácidos graxos livres foram os obtidos pela metodologia de extração Bligh e Dyer, como esperado, determinando que a interação de solventes com distintas polaridades extrai ácidos graxos diferentes, de acordo com suas afinidades, tanto da camada celular de microrganismos presentes no lodo de esgoto, quanto dos lipídios dispersos no efluente (BOOCOOCK *et al.*, 1992). Provavelmente, nestes extratos lipídicos estão presentes componentes que não podem ser transformados em biodiesel, conforme discutido anteriormente.

Segundo Siddiquee e Rohani (2011), a catálise ácida ou enzimática pode ser utilizada para a produção de biodiesel com quantidades de AGL acima de 1 %, desde que os catalisadores não sejam afetados pela alta concentração de ácidos graxos livres e água, promovendo simultaneamente a transesterificação dos triacilgliceróis e a esterificação dos ácidos graxos. Sendo assim, a quantidade de ácidos graxos livres e índice de acidez obtidos da análise do extrato lipídico do lodo de esgoto doméstico indicam que o melhor processo para produção de ésteres é a via ácida, podendo ser utilizado ácido sulfúrico, como descrito na metodologia de Gerhard *et al.* (2015).

IV.3.2 Teor de Umidade

A reação de transesterificação é influenciada pelas propriedades físico-químicas do óleo que será empregado na reação. Embora não exista uma especificação oficial para os óleos empregados no processo de produção de biodiesel, estudos como o realizado por Kulkarni e Dalai (2006) revelam que altos índices de acidez e umidade reduzem o rendimento da reação. Diversos autores concluem que a água é negativa no meio reacional, diminuindo o rendimento de ésteres, pois a sua interação com os ácidos graxos livres promove a reação de saponificação ou hidrólise (LIU, 1994). Apenas 0,3 % de teor de água na mistura de reação reduz significativamente a velocidade de reação e é necessário menos de 0,5 % de conteúdo de ácidos graxos livres (AGL) para obter uma reação máxima (FREEDMAN *et al.*, 1984; LEE *et al.*, 2002; HAAS E FOGLIA, 2005).

Para a análise do teor de umidade contido no extrato lipídico purificado do lodo de esgoto, as amostras foram dissolvidas em solvente hexano e foi realizada determinação para as amostras diluídas, pois o extrato lipídico é de alta viscosidade,

impedindo sua análise no aparelho Karl Fischer. Posteriormente, foi realizada a análise da quantidade de água presente no solvente. Ao valor obtido da análise da solução foi abatido o resultado médio encontrado no solvente de 56 ppm. O teor de umidade obtido para o extrato lipídico purificado de lodo de esgoto seco é apresentado na Tabela IV.6. O índice de umidade foi realizado por meio de aparelho Karl Fisher e pode-se obter o resultado médio para o teor de umidade de $0,2636 \pm 0,0024$ % no extrato lipídico, indicando baixa umidade. Portanto, o teor de umidade encontrado no extrato lipídico purificado de espuma de esgoto seca está abaixo do limite considerado aceitável para produção de biodiesel de 0,3 %, conforme descrito por Freedman *et al.* (1984) e Lee *et al.* (2002).

Tabela IV. 6 – Teor de umidade no extrato lipídico da espuma de esgoto seca e purificada.

Amostra	Teor de umidade
	(% m/m)
1	0,2624
2	0,2664
3	0,2620

IV.3.3 Determinação do Índice de Saponificação

O índice de matéria saponificável indica, na porção de lipídios extraídos do lodo de esgoto, o percentual de matéria graxa com potencial para conversão em ésteres. A matéria saponificável é basicamente a porção lipídica de acilgliceróis e ácidos graxos livres (OLKIEWICZ *et al.*, 2015), que são de interesse para a síntese de ésteres por esterificação e transesterificação. Além disso, quanto maior é o índice de saponificação, menor é a massa molar do triacilglicerídeo. Dessa maneira, o valor de índice de saponificação obtido para o extrato lipídico purificado do lodo de esgoto seco pode ser observado na Tabela IV.7.

Tabela IV. 7 – Resultados de análise de índice saponificação para o extrato lipídico do lodo de esgoto seco.

	Massa da amostra (mg)	Volume titulado (mL)	Índice de saponificação (KOH/g de amostra)
Amostra 1	0,1413	14,7	218,44
Amostra 2	0,1505	14,6	223,73
Branco		15,8	
Média			221,08
Desv.Padrão			3,74

Portanto, o valor do índice de saponificação foi de $221,08 \pm 3,74$ mg de KOH/g de amostra, ou seja, 22,11 % da massa de matéria lipídica extraída, são lipídios saponificáveis. Os valores encontrados estão um pouco acima dos valores encontrados por Girisha *et al.* (2014), que obtiveram 151,61mg KOH/g de amostra, para índice de saponificação da matéria lipídica extraída no lodo de esgoto.

Os resultados obtidos por Dufreche *et al.* (2007) são semelhantes àqueles do presente trabalho, sendo que 19,7 % em massa foi de matéria saponificável encontrada no óleo extraído com hexano, enquanto a extração com metanol resultou em 14,25 % de matéria saponificável, apontando que o solvente empregado está relacionando com os lipídios extraídos, uma vez que solventes polares como o metanol aumentam o rendimento da matéria lipídica extraída, porém, reduzem o valor de matéria saponificável.

Por outro lado, os valores encontram-se abaixo dos valores obtidos por Wilson *et al.* (2010), sendo apresentado um valor de 51,04 % de matéria saponificável no lodo primário (escuma de esgoto). Da mesma forma, Olkiewicz *et al.* (2015), realizaram a caracterização de matéria saponificável dos lipídios extraídos de quatro etapas diferentes de tratamento de esgoto doméstico. Os autores apresentaram valores de 69 % de matéria saponificável no lodo primário, seguido de 56 % para a blenda de lodos primário e secundário, 41 % do lodo secundário e lodo estabilizado foi de 14 %. Assim, os rendimentos globais de biodiesel foram 18 %, 11 %, 4 % e 1 % para lodo primário, secundário, misturado e estabilizado não tratado, respectivamente, indicando que o índice de saponificação está diretamente relacionado ao rendimento de biodiesel.

Portanto, é possível concluir que o processo de extração de lipídios por Soxhlet com solvente hexano levou à obtenção de um extrato com teores qualitativos de lipídios, que podem ser convertidos em biodiesel, mostrando a potencialidade e importância do método de extração empregado e da matéria-prima lodo de esgoto seco para a produção de biodiesel.

IV.3.4 Determinação de Matéria Insaponificável

A matéria insaponificável presente na amostra indica a quantidade de elementos lipídicos que não contém ácido graxo em sua composição e que não sofrerão reação de saponificação, ou seja, não poderão fazer parte da composição dos ésteres produzidos na síntese de biodiesel. Na Figura IV.7 é ilustrada a determinação do teor de matéria insaponificável no extrato lipídico purificado.

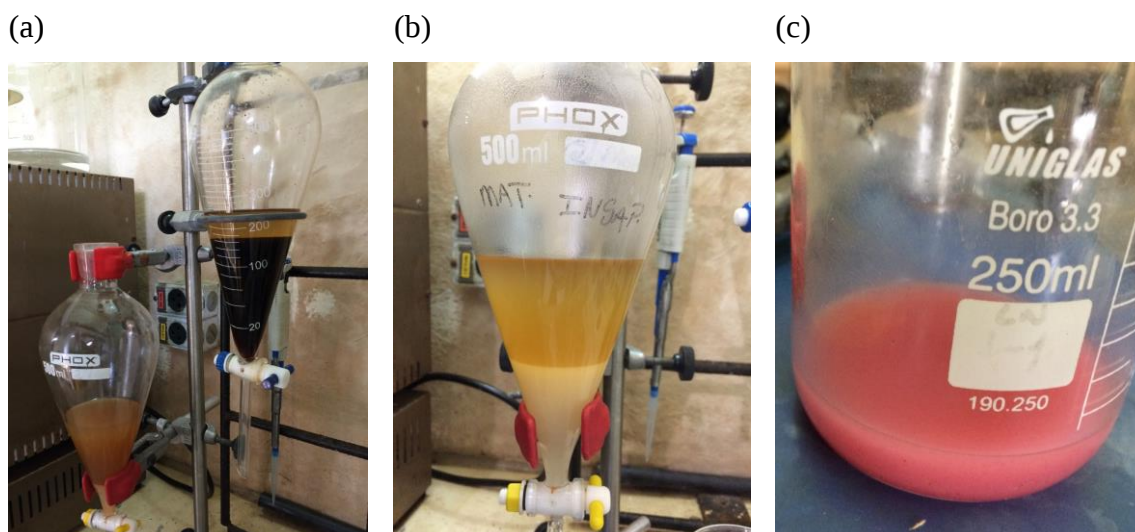


Figura IV.7 Etapas de análise de matéria insaponificável, sendo (a) separação de matéria insaponificável após reação de saponificação; (b) lavagem da reação até completa retirada de saponificáveis; e (c) controle via indicador, da lavagem para retirada de saponificáveis.

O valor obtido na análise do teor de matéria insaponificável no extrato lipídico do lodo de esgoto seco purificado por adsorção é apresentado na Tabela IV.8.

Tabela IV. 8 – Resultados de análise do teor de matéria insaponificável para o extrato lipídico do lodo de esgoto seco.

Análise	Massa amostra (g)	Massa resíduo obtido (g)	% Matéria Insaponificável (g/g)
Ensaio 1	5,01	0,260	4,89
Ensaio 2	0,510	0,0381	4,47
Branco	-	0,0153	-
Média			4,68
Desvio Padrão			0,297

O teor de $4,68 \pm 0,297$ % de matéria insaponificável pode ser considerado baixo, quando comparado aos valores apresentados na literatura, indicando que o método de extração por Soxhlet, seguido por purificação por adsorção, foi bastante seletivo aos lipídios neutros, que constituem a matéria-prima desejável para a produção de biodiesel. Este valor está em acordo com os resultados obtidos anteriormente, de índice de saponificação.

De fato, Gerhard *et al.* (2015) relatam baixos índices de matéria insaponificável na matéria lipídica extraída, cerca de $10,9 \pm 0,1$ %, indicando alto teor de acilgliceróis, que pode levar à obtenção de altos rendimentos em ésteres, na produção de biodiesel.

Por outro lado, Boocock *et al.* (1992) obtiveram 28 % de matéria insaponificável do extrato lipídico em uma extração de lodo primário de esgoto doméstico, para o qual 18 % da massa foi de lipídios totais, sendo 65 % dos lipídios extraídos composto por ácidos graxos livres (AGL), 7 % de triacilgliceróis e 28 % composto por matéria insaponificável. Também cabe ressaltar os valores obtidos por Melero *et al.* (2015), que reduziram a matéria não saponificável de 44 % para 8 % após uma lavagem simples do extrato lipídico obtido do lodo de esgoto, com água destilada, e posterior secagem em estufa a 40 °C, por 12 horas.

Dessa forma, os resultados obtidos, embora com valores menores do que os geralmente encontrados na literatura, apresentam uma maior proximidade dos valores obtidos por Melero *et al.* (2015). Esta proximidade de valores pode ser explicada pelo fato de, nos dois procedimentos, o extrato lipídico ter sofrido purificação, reduzindo os valores de matérias não saponificáveis.

IV.3.5 Índice de Peróxido

O índice de peróxido indica a quantidade de substâncias que oxidam o Iodeto de Potássio, que estão presentes na amostra. Estas substâncias são consideradas como peróxidos ou outros produtos similares, provenientes da oxidação de gorduras (ISO 27107 - 2008). Dessa forma, os extratos lipídicos que apresentam elevados valores deste parâmetro não seriam adequados como matéria-prima para a síntese de biodiesel.

Os resultados obtidos para a determinação do índice de peróxido (I.P.) do extrato lipídico purificado de lodo de esgoto seco podem ser observados na Tabela IV.9.

Tabela IV. 9 – Análise de índice de peróxidos do extrato lipídico purificado do lodo de esgoto seco.

Análise	Massa amostra (mg)	Volume titulado (mL)	I.P. (mEq/kg)
Ensaio 1	0,0618	1,1	1537
Ensaio 2	0,0696	1,15	1293
Média			1415
Desv. Padrão			172,6

Na Figura IV.8 é apresentada uma ilustração das etapas envolvidas na determinação do índice de peróxido

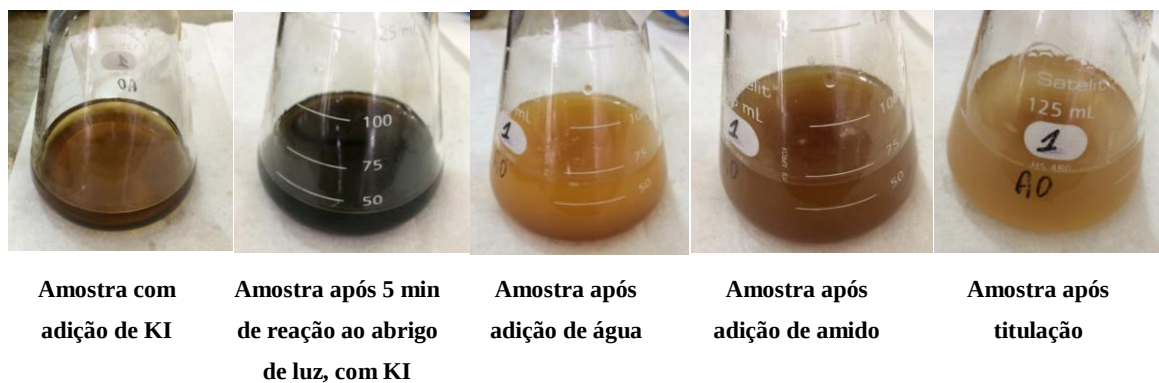


Figura IV.8 Etapas da análise de índice de peróxidos (I.P.) do extrato lipídico purificado do lodo de esgoto seco.

O valor de I.P. de $1415 \pm 172,6$ mEq/kg de amostra indica que o extrato lipídico obtido não estaria dentro dos padrões adequados para a utilização como matéria-prima para produção de biodiesel. Porém, cabe destacar que o alto valor apontado na análise do índice de peróxido (I.P.) no óleo extraído de lodo de esgoto doméstico, pode apontar falsa indicação de degradação, uma vez que o processo de extração, quando conduzido em presença de oxigênio, pode gerar peróxidos em quantidades superiores aos originalmente presentes (JORGE, 2009). Dessa forma, o alto I.P. obtido no presente estudo indica que os lipídios purificados de lodo de esgoto seco, utilizados para a síntese de ésteres, se encontram em alto grau de processamento, o que está diretamente ligado ao alto grau de ácidos graxos livres presentes no extrato lipídico, confirmando a adoção de rotas catalíticas ácidas para a produção de ésteres por transesterificação.

IV.3.6 Determinação da Composição em Ácidos Graxos dos Lipídios Extraídos do Lodo de Esgoto

A qualidade do biodiesel pode ser influenciada por vários fatores, como a qualidade da matéria-prima, a composição de ácidos graxos do óleo a ser utilizado para a produção, o processo de produção e outros materiais utilizados no processo. De acordo com as características do óleo, alterações na rota reacional podem ser realizadas, devido, principalmente, à presença de água e ao alto índice de ácidos graxos livres (KNOTHE *et al.*, 2006).

Para a análise de composição de ácidos graxos presentes no extrato lipídico do lodo de esgoto seco, as amostras foram submetidas à reação de derivatização, seguindo a metodologia descrita na seção III.4.6, sendo esta, realizada também para a amostra após a purificação em coluna de leito fixo de carvão ativado.

Dessa forma, a partir da análise do extrato lipídico de lodo de esgoto seco, pode-se realizar uma comparação da eficiência do método de extração e da purificação dos ácidos graxos. A composição em ácidos graxos dos lipídios extraídos pela metodologia de extração com hexano é apresentado na Tabela IV.10.

Tabela IV. 10 – Composição em ácidos graxos do extrato lipídico da espuma de esgoto seca obtida com a utilização de hexano.

Ácido Graxo Extraído	% (m/m) ácido graxo antes purificação			% (m/m) ácido graxo após purificação		
	Ens. 1	Ens.2	Média	Ens.1	Ens.2	Média
Ác. Láurico (C12:0)	0,97	1,10	1,04±0,006	0,91	0,94	0,93±0,015
Ác. Mirístico (C14:0)	6,30	6,15	6,23±0	6,09	6,12	6,11±0,015
Ác. Palmítico (C16:0)	67,55	65,38	66,5±1,08	66,20	65,74	65,97±0,230
Ác. Palmitoleico (C16:1)	0,67	0,61	0,637±0,030	0,68	0,71	0,69±0,0169
Ác. Oleico (C18:1n9c)	21,18	23,07	22,1±0,948	22,45	22,37	22,4±0,043
Ác. Linoleico (C18:2n6c)	3,33	3,69	3,51±0,1802	3,66	4,11	3,89±0,227

A partir dos resultados apresentados na Tabela IV.10 é possível observar uma ligeira diminuição nos teores dos ácidos graxos saturados e um consequente pequeno aumento nos ácidos graxos insaturados e poliinsaturados após purificação em coluna de leito fixo de carvão ativado. Isto indica que há uma adsorção seletiva destes componentes, alterando a composição em ácidos graxos do extrato lipídico obtido por este método. Também, deve-se levar em consideração que houve uma variação significativa da quantidade de lipídios retidos na coluna de adsorção, segundo os valores apresentados na Tabela IV.2, o que pode corroborar tal influência na composição em ácidos graxos obtida.

Cabe destacar que a fração de ácidos graxos saturados é predominante (73 %) em relação aos ácidos graxos insaturados (27 %) após purificação, o que pode influenciar de forma significativa as propriedades do biodiesel obtido a partir desta matéria-prima, como a estabilidade oxidativa, relacionada, principalmente, à alta quantidade de C16:0 (KNOTHE, 2008). Além disso, estudos conduzidos por Melero *et al.* (2015) demonstram que na extração realizada com hexano, a composição em ácidos graxos apresenta valores acima de 70 % em saturados, o que indica condições favoráveis na qualidade do extrato lipídico obtido pela metodologia realizada.

Da mesma forma, é possível observar o efeito do método Bligh e Dyer nas extrações e purificações dos lipídios presentes no lodo de esgoto seco, a partir dos dados apresentados na Tabela IV.11.

Tabela IV. 11 – Composição em ácidos graxos do extrato lipídico de lodo de esgoto seco obtida pelo método Bligh e Dyer.

Ác. Graxo Extraído	% ácido graxo antes purificação (g/g)					% ácido graxo após purificação (g/g)		
	Ens.1	Ens.2	Ens.3	Ens.4	Média	Ens.1	Ens.2	Média
Ác. Láurico (C12:0)	2	2,14	1,90	1,95	2 ± 0,0014	1,96	1,97	1,97±0,005
Ác. Mirístico (C14:0)	9	8,96	8,00	7,98	8,5±0,006	8,07	8,11	8,09±0,017
Ác. Palmítico (C16:0)	65	65,40	64,72	64,00	64,8±0,006	64,50	64,66	64,58±0,08
Ác.Palmitoleico (C16:1)	1	0,86	1,01	1,00	1 ± 0,0020	-	-	-
Ác. Oleico (C18:1n9c)	19	19,74	21,57	22,31	20,7±0,0044	21,53	21,56	21,54±0,01
Ác. Linoleico (C18:2n6c)	3	2,89	2,80	2,76	3±0,0012	3,94	3,70	3,82±0,12

Para os lipídios extraídos pelo método de Bligh e Dyer, pode-se observar que após purificação em coluna de carvão ativado, 74,64 % dos ácidos graxos são saturados e 25,36 % são insaturados. De forma não esperada, há um pequeno aumento na fração de ácidos graxos poliinsaturados em detrimento dos ácidos graxos saturados e insaturados, um comportamento semelhante ao observado para o método de extração com hexano. Consequentemente, se espera que as propriedades do biodiesel produzida a partir deste extrato sejam diferentes, principalmente, com ganhos na fluidez a frio e viscosidade (KNOTHE *et al.*, 2006).

Os resultados obtidos para a extração utilizando metodologia de Soxhlet podem ser observados na Tabela IV.12.

Tabela IV. 12 – Composição em ácidos graxos do extrato lipídico do lodo de esgoto seco obtida pelo método Soxhlet

Ác. Graxo Extraído	% ácido graxo antes purificação (g/g)				% ácido graxo após purificação (g/g)			
	Ens.1	Ens.2	Ens.3	Média	Ens.1	Ens.2	Ens.3	Média
Ác. Láurico (C12:0)	1,86	1,42	1,50	1,50±1,19	-	-	-	-
Ác. Mirístico (C14:0)	8,12	6,40	7,22	7,22±0,70	8,59	8,28	7,56	8,15±0,005
Ác. Palmítico (C16:0)	64,01	53,79	62,17	62,2±4,45	64,12	63,33	64,94	64,13±0,008
Ác. Palmitoleico (C16:1)	1,31	15,44	4,64	4,64±6,03	-	-	-	-
Ác. Oleico (C18:1n9c)	19,70	17,41	20,60	19,7±1,34	18,62	18,96	20,09	19,22±0,008
Ác. Linoleico (C18:2n6c)	5,01	5,54	3,86	5,01±0,70	8,67	9,43	7,42	8,50±0,010

Os resultados apresentados na Tabela IV.12 permitem observar um aumento, em geral, de componentes saturados e poliinsaturados, e ligeira diminuição de compostos monoinsaturados após purificação por adsorção, um comportamento um pouco diferente aos observados com a extração com hexano e por Bligh e Dyer.

De maneira geral, pode-se observar que dentre as extrações realizadas, os ácidos graxos presentes em extratos lipídicos em maior quantidade são os ácidos palmítico (C16:0), oleico (C18:1n9c), mirístico (C14:0) e linoleico (C18:2n6c), respectivamente. Dessa forma, a composição em ácidos graxos presentes no extrato lipídico de lodo de esgoto seco está em significativa proximidade aos resultados obtidos por Dufreche *et al.* (2007), que obtiveram como principais ácidos graxos extraídos com hexano o C16:0, seguido do C18:1, C18:0, C16:1, C18:2 e C14:0. Em concordância com estes resultados, Siddiquee e Rohani (2011) encontraram o ácido palmítico (C16:0) em maior quantidade no óleo extraído de lodo de esgoto. Também, Melero *et al.* (2015) verificaram que os lipídios extraídos do lodo de esgoto contêm principalmente os ácidos palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0) e ácido oleico (C18: 1), seguido de ácido erúico (C22:1), mirístico (C14:0) e linoleico (C18:2).

Portanto, baseado na composição do extrato lipídico do lodo de esgoto, os ácidos graxos predominantes são C16:0, C18:1, C14:0 e C18:2, semelhantes aos ácidos graxos principais observados no resíduo de cozinha (OGR), que são C16:0, C18:0,

C18:1 e C18:2, matéria-prima comumente empregada na produção de biodiesel no Brasil (ANP, 2016).

Também é possível destacar que, de maneira geral, o extrato lipídico obtido no presente estudo caracteriza-se por apresentar um teor de 73 % de ácido graxos saturados e 27 % de insaturados, resultado acima do encontrado por Olkiewicz *et al.* (2015), que obtiveram aproximadamente 65 %, 28 % e 7 % de ácidos graxos saturados, monossaturados e poliinsaturados, respectivamente, para o extrato lipídico de esgoto doméstico.

Comparando a composição em ácidos graxos dominantes em ésteres produzidos por oleaginosas, tais como soja, colza e óleo de cozinha residual, a diferença importante é observada na menor quantidade de C18:2 e a ausência de C18:3 na composição em ácidos graxos do lodo de esgoto seco, o que se torna vantajoso para a matéria graxa de lodo de esgoto, uma vez que ácidos graxos poliinsaturados podem sofrer reações como a auto-oxidação, provocando uma baixa estabilidade do biodiesel (RAMOS *et al.*, 2009), o que indica a potencialidade de utilização desta matéria-prima para a produção de biodiesel.

Por fim, a partir da composição em ácido graxo obtida, é possível determinar o valor da massa molar do extrato lipídico do lodo de esgoto purificado que foi de 452,86 g/mol. Esse valor é diferente do valor obtido por Bitonto *et al.* (2016), que obtiveram uma massa molar de 269,8 g/mol, fato este que se deve, provavelmente à composição lipídica do extrato lipídico do lodo de esgoto, uma vez que a qualidade do esgoto é variável de localização para localização.

IV.4 Transesterificação *in situ*

A transesterificação *in situ* do lodo de esgoto foi realizada para verificação das condições reacionais apontadas pela caracterização, e foi avaliada de acordo com o método proposto por Gerhard *et al.* (2015). A Tabela IV.13 mostra o rendimento em ésteres metílicos obtidos em função do tempo, utilizando metanol na proporção 20:1 (L: kg) com o lodo de esgoto seco, equivalendo a 4 gramas. Foi empregado o uso de rota catalítica ácida, com adição de 0,25 mL de H₂SO₄, ou seja, 6,25 % (v/m) da massa do lodo de esgoto seco.

Tabela IV. 13 – Rendimento em ésteres metílicos via transesterificação ácida *in situ* do lodo de esgoto seco a 55 °C.

Tempo de Reação (min)	% Rendimento em ésteres (g/g)			
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média
1 – inicial *	42,11	—	44,34	43,22 ± 1,15
2 – 30	45,73	48,1	47,12	46,98 ± 0,97
3 – 60	46,89	45,31	47,53	46,58 ± 0,93
4 – 120	47,01	36,55	46,48	43,35 ± 4,81
5 – 240	47,92	46,91	47,81	47,55 ± 0,45
6 – 360	56,88	55,26	60,24	57,46 ± 2,07

* tomado a partir do reator atingir a temperatura de 55 °C, a partir da adição dos reagentes a temperatura ambiente.

De acordo com os dados obtidos, pode-se observar que o rendimento máximo em ésteres metílicos foi de $57,46 \pm 2,07$ %, em 6 horas de reação. O rendimento médio em ésteres metílicos em função do tempo, pode ser observado na Figura IV.9. Os valores observados na curva cinética são maiores do que os obtidos por Gerhard *et al.* (2015), que obtiveram 36 % de rendimento em ésteres para a transesterificação *in situ* de lodo seco, seguindo as mesmas condições de reação. Também são maiores do que os valores relatados por Mondala *et al.* (2009), que realizaram a transesterificação *in situ* do lodo primário (escuma de esgoto), com reação estabelecida em 75 °C, 5 % (v/v) de catalisador H₂SO₄ e proporção metanol para lodo de 12:1 (v:m). Os autores obtiveram 14,5% de ésteres metílicos. Segundo Revellame *et al.* (2009) as temperaturas acima de 60 °C interferem no rendimento em ésteres da reação de transesterificação, o que pode justificar que os valores obtidos no presente trabalho sejam maiores do que os valores obtidos por Mondala *et al.* (2009). Além disso, Revellame *et al.* (2009) obtiveram 13,3 % de rendimento em ésteres com a melhor condição traçada em 55 °C, razão metanol para lodo de 25:1 (v:m) e 4 % (v:m) de ácido sulfúrico, condições próximas à utilizada no presente trabalho. Os autores utilizaram lodo ativado, o que pode justificar o menor valor obtido, uma vez que o lodo ativado apresenta menor percentual de lipídios totais do que o lodo proveniente de descarga do sobrenadante do reator UASB, que foi utilizado no presente trabalho.

Além disso, a partir da curva cinética apresentada na Figura IV.9 é possível observar que o sistema atinge um rendimento máximo médio em ésteres (48,38 %) logo nos primeiros instantes de reação, ou seja, a partir de 30 min de reação. Portanto, a reação de transesterificação *in situ* para o lodo de esgoto seco pode ser realizada em um tempo relativamente curto, contribuindo de forma positiva para a potencialidade do processo.

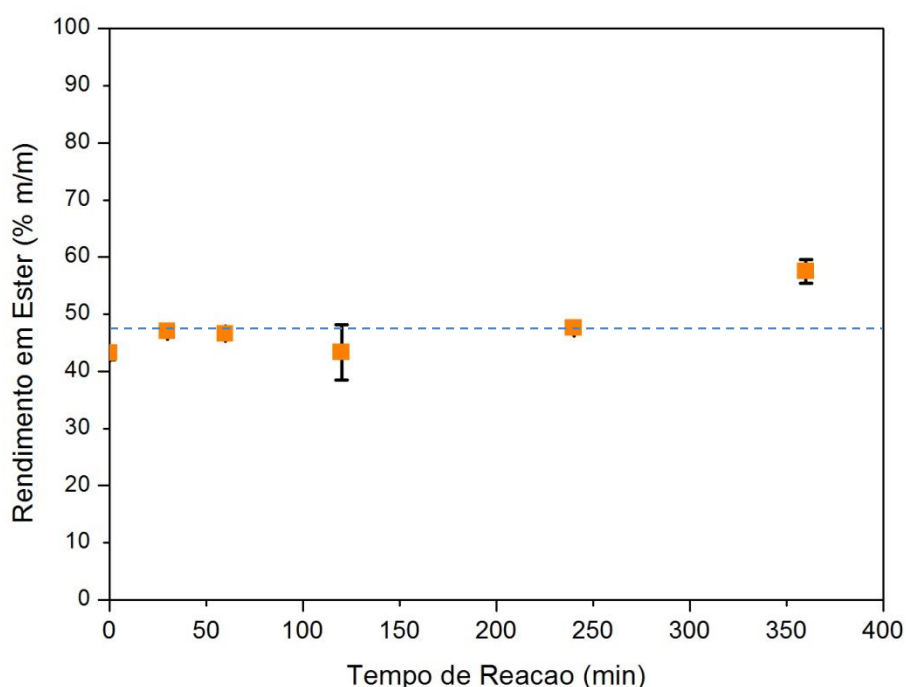


Figura IV. 9—Rendimento em ésteres metílicos obtido na reação *in situ* em função do tempo, utilizando o solvente hexano.

Como a reação ocorreu em sistema acoplado a um condensador, os reagentes evaporados, decorrentes da temperatura de reação de 55 °C, condensaram e retornaram ao reator, estando constantemente em contato com o lodo de esgoto. A agitação constante garantiu que houvesse choque molecular, devido a um contato íntimo entre solvente e a espuma do esgoto, ação necessária para aumento na extração de lipídios (DEMIRBAS *et al.*, 2009) e promoção da reação de transesterificação *in situ*. Assim, os valores de rendimento em ésteres obtidos e a curva cinética observada indicam a potencialidade de utilização desta matéria-prima para a síntese de biodiesel.

IV.4.1 Composição em Ésteres Metílicos Produzidos na Reação *in situ*

A composição dos ésteres metílicos produzidos pela reação *in situ* utilizando lodo de esgoto seco é apresentada na Figura IV.10.

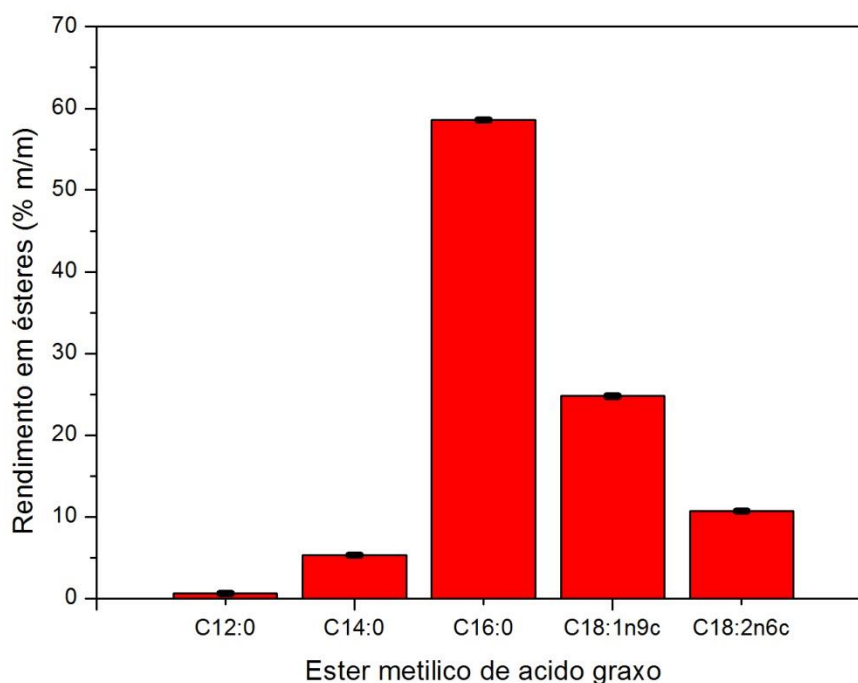


Figura IV. 10 – Composição em ácidos graxos dos ésteres metílicos produzidos a partir do lodo de esgoto doméstico seco, por reação *in situ*.

A composição dos ésteres metílicos obtidos está em acordo com os resultados apresentados na literatura, como citado anteriormente (GERHARD *et al.*, 2015, REVELLAME *et al.*, 2009, MONDALA *et al.*, 2009, DUFRECHE *et al.*, 2007).

Por meio da Figura IV.10 pode-se observar que os ésteres de ácidos graxos em maior quantidade são o Palmítico (C16:0), Oleico (C18:1n9c), e Linoleico (C18:2n6c) totalizando 85,1 % dos ácidos graxos presentes. O ácido palmítico (C16:0) constituiu 58,6% dos ácidos graxos, dessa forma, sendo mais de 64 % dos ácidos graxos presentes, ácidos graxos saturados, 24,8 % de monoinsaturados e 10,7 % de poliinsaturados, composição próxima ao éster produzido a partir de óleo de palma, que apresenta 43 % de C16:0, 39 % de C18:1n9c e 10 % de C18:2 (HAYAN *et al.*, 2010). Então, essa composição em ésteres predominantemente de ácidos graxos saturados e monoinsaturados aponta para uma qualidade altamente desejável, principalmente na

comunidade europeia (SINGH e SINGH, 2010), do biodiesel que poderia ser produzido a partir da espuma de esgoto.

De fato, se a composição em ácidos graxos for comparada às matérias-primas mais comuns para a produção de biodiesel no Brasil, em que os ácidos graxos predominantes no óleo de soja são o C18:2, C18:1 e C16:0 (FERRARI *et al.*, 05), e na Europa, em que os ácidos graxos predominantes no óleo de colza são o C18:1 e o C18:2 (SENSOZ *et al.*, 2000), pode-se evidenciar os benefícios da composição dos ésteres obtidos do lodo de esgoto seco, uma vez que ácidos graxos poliinsaturados, observados em maior quantidade no biodiesel de soja e em menor quantidade nos ésteres de lodo de esgoto, podem sofrer severas reações de oxidação, acarretando uma estabilidade muito baixa do biocombustível (RAMOS *et al.*, 2009, KNOTHE *et al.*, 2006), que se constitui em uma das maiores restrições à importação do biodiesel de soja pela Europa.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES

A partir da extração dos lipídios presentes no lodo de esgoto seco, foi possível avaliar a viabilidade para a utilização deste gerador de passivo ambiental como ativo energético, na produção de ésteres metílicos, com finalidade de produção de biodiesel.

Os procedimentos de desinfecção utilizados demonstraram eficiência, possibilitando que o lodo de esgoto fosse manipulado com segurança.

Por meio dos ensaios de extração foi possível concluir que a metodologia Soxhlet apresentou os melhores resultados dentre as metodologias testadas, também com rendimentos em lipídios neutros, 26 % (m/m). Da mesma forma, a purificação do extrato lipídico extraído do lodo de esgoto seco revelou-se apropriada para a retenção de compostos indesejados, possibilitando um extrato lipídico com ácidos graxos mais aptos para a produção de um biodiesel de qualidade.

A caracterização dos lipídios presentes no lodo de esgoto seco possibilitou o conhecimento da matéria-prima e foi de extrema importância na determinação do tipo de rota catalítica a ser empregada. Mediante análise de índice de acidez, pôde-se verificar a presença de alta acidez no extrato lipídico de lodo de esgoto seco, indicando assim, a adoção de rota catalítica ácida para a síntese de ésteres.

O índice de acidez foi determinado para cada método de extração empregado, possibilitando compreender que a metodologia de extração e solvente empregado estão diretamente relacionados aos ácidos graxos extraídos, e, por conseguinte, relacionado ao aumento no valor de acidez, conforme descrito na literatura. O resultado foi expresso como valor de acidez em ácido palmítico e obteve-se os valores de 40 %, 45 % e 69 % para as extrações de Hexano, Soxhlet e Bligh e Dyer, respectivamente.

A análise dos sólidos do lodo de esgoto mostrou 64 % de umidade e 61 % de matéria orgânica, possibilitando uma correlação com o estado de deterioração por oxidação da matéria-prima graxa extraída, encontrada em amostras relacionadas à

presença de água, que pôde ser confirmada por análise de índice de peróxidos, análise que, embora tenha apresentado alto valor, 1415,15 mEq/kg de amostra, não interferiu na produção de ésteres de qualidade. Neste contexto, o teor de umidade encontrado no extrato lipídico de lodo de esgoto seco ficou dentro do esperado para utilização como matéria-prima na produção de biodiesel, apresentando valor de 0,26 % de umidade, abaixo do máximo determinado de 0,3 % de umidade na amostra para que a água contida não interfira na reação de transesterificação.

Para a determinação do percentual de compostos que não se converterão em ésteres na matéria-prima, foi utilizado o índice de matéria insaponificável. Os resultados obtidos foram de 4,68 %, próximo aos obtidos por Melero *et al.* (2015), que utilizaram a mesma metodologia de purificação dos lipídios extraídos, para retenção de compostos indesejados. Da mesma forma, com o objetivo de determinar o percentual de lodo que poderia ser transformada em ésteres, a análise de matéria saponificável foi feita e a mesma apresentou resultados de 22 %.

A composição em ésteres metílicos de ácidos graxos presentes no extrato lipídico de lodo de esgoto seco foi de 64 % de concentração de ácidos graxos saturados e 35 % de insaturados, sendo representados por C16:0 e C18:1 e C18:2, possibilitando a produção de um biodiesel com boas propriedades em relação à estabilidade oxidativa.

A transesterificação ácida *in situ* mostrou valores de rendimento de ácidos graxos em ésteres acima do esperado, obtendo-se rendimento de 57,46 % de ésteres metílicos. Sobretudo, vale ressaltar que a transesterificação *in situ*, devido à possibilidade de redução de custos relacionados ao tempo de reação e ao uso de solventes, quando comparada ao processo clássico de extração e/ou purificação do óleo, apresentou grande potencial de utilização. Portanto, pode-se inferir que o lodo de esgoto consiste em uma matéria-prima com 39 % de sólidos fixos, com aproximadamente 26 % da sua massa composta por lipídios totais, dos quais 22 % são representados por matéria saponificável.

Por fim, a utilização dos lipídios contidos no lodo de esgoto para a produção de ésteres consiste em uma medida mitigadora de fonte de passivo ambiental eficiente, podendo ser considerada uma alternativa consistente de redução do lodo de esgoto, gerador de custos às unidades de tratamento de esgoto, podendo ser transformado em um resíduo mais estável e de alto valor agregado, como por exemplo, o biodiesel, que vem ao encontro da necessidade de arranjos alternativos e locais para fontes de matérias-primas.

CAPÍTULO VI

REFERÊNCIAS

ABNT–Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 9648. 1986.

APHA - American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. *American Water Works Association and Water Environment Federation*, 19ª Edição, 1995.

ANDREOLI, C. V.. Biossólidos: Alternativas de uso de resíduos do Saneamento. *Prosab*. v. 4, Editora Abes, Rio de Janeiro, 1ª Edição, 2006.

ANP – Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis. *Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis*, 2016.

ANP – Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis. *Biocombustíveis*. disponível em: www.anp.gov.br. Acesso em: 05/2017.

ANP – Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis. *Boletim Mensal do Biodiesel*, Maio de 2017.

AOAC – Association of official analytical chemists. *Official methods of analysis*. v.15, Washington, D.C. *Editorial Board*, 1997.

AOCS - American oil chemist's society. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society*. Recomendação de Prática Ca 1-40. 4ª ed., 1995.

- BARROS, H. S.; Uso De Resíduos Sólidos De Uma Estação De Tratamento De Esgoto-ETE, Para A Produção de Biodiesel Via Catálise Ácida *In Situ*. *Dissertação de Mestrado*, Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, 2015.
- BECK, S. E.; WRIGHT, H. B.; HARGY, T. M.; LARASON, T. C.; LINDEN, K. G.. Action spectra for validation of pathogen disinfection in medium-pressure ultraviolet (UV) systems. *Water Research*, v. 70, p. 27 – 37, 2015.
- BHUIYA, M. M. K.; RASUL, M. G.; KHAN, M. M. K.; ASHWATH, N.; AZAD, A. K.. Prospects of 2nd generation biodiesel as a sustainable fuel - Part:1 selection of feedstocks, oil extraction techniques and conversion technologies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 55, p. 1109 – 1128, 2016.
- BITONTO, L.; LOPES, A.; MASCOLO, G; MININNI, G.; PASTORE, C.. Efficient solvent-less separation of lipids from municipal wet sewage scum and their sustainable conversion into biodiesel. *Renewable Energy*, v. 90, p. 55 – 61, 2016.
- BOOCOCK, D. G. B.; KONAR, S. K.; LEUNG, A.; LY, L.D.. Fuels and chemicals from sewage sludge: 1. The solvent extraction and composition of a lipid from a raw sewage sludge. *Fuel*, v.71, p. 1283-1289, 1992.
- BP STATISTICAL REVIEW OF WORLD ENERGY. 65th edition, Junho, 2016. Disponível em : www.bp.com . Acesso em: 06/2017.
- BLIGH E. G.; DYER W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, v. 37, p. 911-917, 1959.
- BRANCO, K. B. Z. F.. Estudo Da Transesterificação In Situ da *Microalga Scenedesmus* sp. Visando À Síntese De Ésteres Para Produção De Biodiesel. *Dissertação de Mestrado*, *Universidade Estadual de Maringá*, 2013.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Método de Ensino IT POV 035. Determinação do índice de peróxidos em produtos de origem animal por oxidimetria. Brasília: *Diário Oficial da União*, 25/07/2014.
- COP 21. FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE. UNITED NATIONS. Conference of the Parties. Adoption of the Paris Agreement. Paris, Novembro, 2015.
- COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S.; ZAGONEL, G. F.; RAMOS, L. P.. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. *Química Nova*, v. 23, p.531 – 537, 2000.
- CUI, X.; TALLEY, J. W.; LIU, G.; LARSON, S. L.. Effects of primary sludge particulate (PSP) entrapment on ultrasonic (20 kHz) disinfection of *Escherichia coli*. *Water Research*, v.45, p. 3300 – 3308, 2011.
- DEMIRBAS, A. Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion and Management*, v. 50, n. 1, p. 14-34, jan. 2009.
- DUFRECHE, S.; HERNANDES, R.; FRENCH, T.. Extraction of lipids from municipal wastewater plant microorganisms for production of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.84, p. 181 - 187, 2007.
- ESCOBAR, J. C.; LORA, E. S.; VENTURINI, E. J.; YANEZ, E. E; et al. Biofuels: Environment, technology and food security. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.13, p.1275–1287, 2009.
- FAHY, E.; SUBRAMANIAM, S.; BROWN, H. A.; GLASS, C. K.; et. al. A comprehensive classification system for lipids. *Journal of Lipid Research*, v. 46, p. 839 – 862, 2005.

- FELGNER, A.; SCHLINK, R.; KIRSCHENBUHLER, P.; FAAS, B.; ISENGARD, H. D.. Automated Karl Fischer titration for liquid samples - Water determination in edible oils. *Food Chemistry*, v. 106, p. 1379 – 1384, 2008.
- FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A.. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físicoquímica e consumo em gerador de energia. *Quim. Nova*, v. 28, p. 19 - 23, 2005.
- FILLIÈRES, R., BENJELLOUN-MLAYAH, B.; DELMAS, M.. Ethanolisys of Rapessed Oils: Quantitation of Ethyl Esters, Mono, Di-, and Triglycerides and Glycerol by Hight-Performance Size – Exclusion Chromatografy. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 72, p. 427 - 432, 1995.
- FOLADORI, P.; LAURA, B.; GIANNI, A.; GIULIANO, Z.. Effects of sonication on bacteria viability in wastewater treatment plants evaluated by flow cytometry – Fecal indicators, wastewater and activated sludge. *Water Research*, v. 41, p. 235 - 243, 2007.
- FREEDMAN, B., PRYDE, E. H., MOUNTS, T.L. Variables Affecting the Yields of Fatty Esters from Transesterified Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 61, n. 10, p. 1638-1643, 1984.
- FU, H.; SURI, R. P. S.; CHIMCHIRIAN, R. F.; HELMIG, E.; CONSTABLE, R.. Ultrasound-Induced Destruction of Low Levels of Estrogen Hormones in Aqueous Solutions. *Environmental Science e Technology*, v. 41, p. 5869 – 5874, 2007.
- FYTILI, D.; ZABANIOTOU, A.. Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods - A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.12, p. 116 – 140, 2008.

- GERHARD, N. S.; CEA, M.; RISCO, V.; NAVIA, R.. In situ biodiesel production from greasy sewage sludge using acid and enzymatic catalysts. *Bioresource Technology*, v.179, p. 63 – 70, 2015.
- GIRISHA, S.T.; RAVIKUMAR, k.; GIRISH, M. V.; Lipid extraction for biodiesel production from municipal sewage water sludge. *European Journal of Experimntal Biology*, v. 4, p. 242 - 249, 2014.
- HAAS, M. J.; FOGLIA, T. A.. Alternate feedstocks and technologies for biodiesel production em The biodiesel handbook. (Knothe, G.; Gerpen, J.V.; Krahl, J. eds). *AOCS Press*, p. 42 – 61, 2005.
- HARTMANN, L.; LAGO, R.C.A.. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practices*, v. 22, p. 475-477, jul. 1973.
- HAYYAN, A.; ALAM, M. Z.; MIRGHANI, M. E. S.; KABBASHI, N. A.; et al. Sludge palm oil as a renewable raw material for biodiesel production by two-step processes. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 7804 – 7811, 2010.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do InstitutoAdolfoLutz. *Câmara Brasileira do Livro-SP*, 3ª Edição, v.1. São Paulo, 1985.
- IAP – Instituto Ambiental Do Paraná. Resolução Sema N° 001/2007. Disponível em: www.iap.pr.gov.br . Acesso em: 25/07/2017.
- ISHII, S.; SADOWSKY, M.. *Escherichia coli* in the environmental: implications for water quality and human health. *Microbres Environmental*, v. 23, p. 101 – 108, 2008.
- JARDE, E.; MANSUY, L.; FAURE, P.. Organic markers in the lipidic fraction of sewage sludge's. *Water Research*, v. 39, p. 1215 – 1232, 2005.

- JORGE, N. Química e Tecnologia de Óleos Vegetais. Cultura Acadêmica, *Universidade Estadual Paulista*, Pró-Reitoria de Graduação, 2009.
- JOYCE, E.; PHULL, S. S.; LORIMER, J. P.; MASON, T. J.. The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured *Bacillus* species. *Ultrasonics Sonochemistry*, v.10, p. 315 - 318, 2003.
- KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P.. Manual do Biodiesel. *Editora Edgard Blücher*, São Paulo-SP, 2006.
- KNOTHE, G.. Designer Biodiesel: Optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy & Fuels*, v. 22, p. 1358 – 1364, 2008.
- KULKARNI, M. G.; DALAI, A. K... Waste Cooking Oils - An Economical Source for Biodiesel: A Review. *Industrial e Engineering Chemistry Research*, v.45, nº 09, p. 2901 – 2913, 2006.
- KWON, E. E., KIM S., JEON, Y. J., YI, H.. Biodiesel Production from Sewage Sludge: New Paradigm for Mining Energy from Municipal Hazardous Material. *Environmental, Science e Technology*, v. 46, p.10222 – 10228, 2012.
- LAM, M. K.; LEE, K. T.; MOHAMED, A. R.. Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review. *Biotechnology Advances*, v. 28, p. 500 – 518, 2010.
- LEE, K. T.; FOGLIA, T. A.; CHANG, K. S.. Production of alkyl ester as biodiesel from fractionated lard and restaurant grease. *JAOCs*, v. 79, n.2, p. 191 – 195, 2002.

- LEIGHTON, T. G.. What is Ultrasound? *Progress in Biophysics e Molecular Biology*, v. 93, p. 3 – 83, 2007.
- LEITE, R. C. C.; LEAL, M. R. L. V. O Biocombustível no Brasil. *Novos Estudos – CEBRAP*, v.78, p. 15 – 21, 2007.
- LIMA, P. C. R.. Biodiesel: um novo combustível para o Brasil. Brasília. *Câmara dos Deputados*, Biblioteca Digital, 2005.
- LIU, K. S.. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Chromatographic Analysis of Lipids in Biological Materials. *JAOCS*, v. 71, n.11, p. 1179 – 1187, 1994.
- LIU, Z.; RUAN, Z.; XIAO, Y.; YI, Y.; et. al. Integration of sewage sludge digestion with advanced biofuel synthesis. *Bioresource Technology*, v. 132, p. 166–170, 2013.
- LOBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S.. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Química Nova*, v. 32, p. 1596 - 1608, 2009 .
- MARCUCCI, S. M. P.. Avaliação Da Influência Das Características Texturais De Sílicas Macro E Mesoporosas Utilizadas Como Suporte Enzimático Na Síntese De Ésteres Etílicos A Partir Do Óleo De Nabo Forrageiro (*Raphanus sativus* L.). *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual de Maringá, 2014
- MAZZER, C.; CAVALCANTI, O. A.. Introdução À Gestão Ambiental De Resíduos. *Infarma*, v. 15, p. 67 – 77, 2004.
- MELO, W. J.; MARQUES, M. O.. Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas. In: BETTIOL, W. e CAMARGO, O. A., ed. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna, *Embrapa Meio Ambiente*, p.109-141, 2000.

- MELERO, J. A.; VAZQUEZ, R. S.; VASILIADOU, I. A.; CASTILLEJO, F. M.; et al. Municipal sewage sludge to biodiesel by simultaneous extraction and conversion of lipids. *Energy Conversion and Management*, v. 103, p. 111–118, 2015.
- MICHELIN, S.; PENHA, F. M.; SYCHOSKI, M. M.; SCHERER, R. P.; et al. Kinetics of ultrasound-assisted enzymatic biodiesel production from Macauba coconut oil. *Renewable Energy*, v.76, p. 388 – 393, 2015.
- MONDALA, A.; LIANG, K.; TOGHIANI, H.; HERNANDEZ, R.; FRENCH, T.. Biodiesel production by in situ transesterification of municipal primary and secondary sludges. *Bioresource Technology*, v.100, p. 1203 - 1210, 2009.
- MORETTO, E.; FETT, R.. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. *Ed. Varela*. 150 p. São Paulo, 1998.
- NELSON, D. L.; COX, M.. Lehninger. Princípios da Bioquímica. *Sarvier*. 3ª Edição. São Paulo, 2002.
- OLIVEIRA, J. P.; ANTUNES, P. W. P.; PINOTTI, L. M.; CASSINI, S. T. A.. Caracterização físico-química de resíduos oleosos do saneamento e dos óleos e graxas extraídos visando a conversão em biocombustíveis. *Química Nova*, v. 37, p. 597-602, 2014.
- OLKIEWICZ, M.; CAPORGNO, M. P.; FOTUNY, A.; STUBER, F.; et. al. Direct liquid–liquid extraction of lipid from municipal sewage sludge for biodiesel production. *Fuel Processing Technology*, v. 128, p. 331–338, 2014.
- OLKIEWICZ, M.; FORTUNY, A.; STUBER, F.; FABREGAT, A; FONT, J.; BENGUA, C.. Effects of pre-treatments on the lipid extraction and biodiesel production from municipal WWTP sludge. *Fuel*, v.141, p. 250–257, 2015.

- OLKIEWICZ, M.; PLECHKOVA, N. V.; EARLE, M. J.; FABREGAT, A.; et. al. Biodiesel production from sewage sludge lipids catalysed by Brønsted acidic ionic liquids. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 181, p. 738–746, 2016.
- PARLITZ, U.; SCHEFFCZYK, C.; AKHATOV, I.; LAUTERBORN, W.. Structure formation in cavitation bubble fields. *Chaos, Soliton e Fractals*, v. 5, p. 1881 – 1891, 1995.
- PASTORE, C.; LOPEZ, A.; LOTITO, V.; MASCOLO, G.. Biodiesel from dewatered wastewater sludge: A two-step process for a more advantageous production. *Chemosphere*, v. 92, p. 667–673, 2013.
- POKOO-AIKINS, G.; HEATH, A.; MENTZER, R.; MANNAN, M. S.; ROGERS, W. J.; EL – HALWAGI, M. M.. A multi-criteria approach to screening alternatives for converting sewage sludge to biodiesel. *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, v. 23, p. 412 - 420, 2010.
- PROSAB. Resíduos Sólidos do Saneamento: Processamento, Reciclagem e Disposição Final. *Rima, ABES*, Ed. 01, 282 p., Rio de Janeiro, 2001.
- RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z.. A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino. *Revista Virtual de Química*, v. 5, p. 2 – 15, 2012.
- RAMOS, L. P.; SILVA, F. R.; MANGRICH, A. S.; CORDEIRO, C. S.. Tecnologias de Produção de Biodiesel. *Revista Virtual de Química*, v. 3, p. 385 – 405, 2011.
- RAMOS, M. J., FERNANDEZ, C. M., CASAS, A., RODRIGUEZ, L., PEREZ, A. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource Technology*, v. 100, n. 1, p. 261-268, 2009.

- REDA, S. Y.. Estudo comparativo de óleos vegetais submetidos a estresse térmico. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2004.
- REVELLAME, E.; HERNANDEZ, R.; FRENCH, W.; HOLMES, W.; ALLEY, E.. Biodiesel from activated sludge through in situ transesterification. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 85, p. 614 – 620, 2010.
- SABESP. NTS 013: Sólidos, métodos de ensaio. São Paulo, 1999.
- SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.. Biotecnologia Industrial, Engenharia Bioquímica. Volume 2, 1ª ed. Editora Edgard Blücher Ltda., São Paulo, 541 p., 2001.
- SCOTT, H. E.; LISS, S. N.; FARNOOD, R. R.; ALLEN, D. G.. Ultraviolet disinfection of sequencing batch reactor effluent: A study of physicochemical properties of microbial floc and disinfection performance. *Journal of Environmental Engineering and Science*. v. 4, p. 65 – 74, 2005.
- SENSOZ, S.; ANGIN, D.; YORGUN, S.. Influence of particle size on the pyrolysis of rapessed (*Brassica napus L.*): fuel properties of bio-oil. *Biomass and Bioenergy*, v. 19, p.271 – 279, 2000.
- SIDDIQUEE, M., KAZEMIAN, H., ROHANI, S.. Biodiesel Production from the Lipid of Wastewater Sludge Using an Acidic Heterogeneous Catalyst. *Chemical, Engineering e Technology*, v.12, p. 1983–1988, 2011.
- SIDDIQUEE, M. N.; ROHANI, S.. Experimental analysis of lipid extraction and biodiesel production from wastewater sludge. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.15, p. 1067–1072, 2011.

- SILVA, C.; OLIVEIRA, J.V.. Biodiesel production through non- catalytic supercritical transesterification: Current state and perspectives. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v.31, p. 271 – 285, 2014.
- SILVA, F. A. M., BORGES, M. F. M., FERREIRA, M. A.. Metodos para Avaliação do Grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante. *Química Nova*, v. 22, p. 94 – 103, 1999.
- SINGH, S. P.; SINGH, D.; Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, p.200–216, 2010.
- SOARES, S. R. A.; BERNARDES, R. S.; NETTO, O. M. C.. Relações entre saneamento, saúde pública e meio ambiente: elementos para formulação de um modelo de planejamento em saneamento. *Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro*, v.18, p.1713 - 1724, 2002.
- SOUZA, J. B.; VIDAL, C. M. de S.; CAVALINI, G. S.; QUARTAROLLI, L.; MACON, L. R. C.. Avaliação do emprego da radiação ultravioleta na desinfecção de esgoto sanitário. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, v. 33, p. 117-126, 2012.
- SOXHLET, F.. Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. *Polytechnisches Journal*, v.232, p. 461 – 465, 1879.
- STEWART, J. R.; SANTO DOMINGO, J. W.; WADE, T. J.. Fecal pollution, public health, and microbial source tracking. *Microbial source tracking*, p. 1-32, 2007.
- TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D.. Metcalf & Eddy Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, and Reuse. *The McGraw-Hill Companies*, Ed.4, New York, 2003.

- TEZEL, U; TANDUKAR; M.; PAVLOSTATHIS, S. G.. Anaerobic biotreatment of municipal sewage sludge. *Comprehensive biotechnology. Environmental biotechnology and safety*, v.6, p, , 2011.
- THOMAS, J. E.. Fundamentos de Engenharia de Petróleo. 2ª edição, Rio de Janeiro: Editora Iterciência, 271 p., 2001.
- TYAGI, V. K.; LO, S. L.. Sludge:A waste or renewable source for energy and resources recovery? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 25, p.708–728, 2013.
- USLU, G.; DEMIRCI, A.; REGAN, J. M.. Efficacy of Pulsed UV-Light Treatment on Wastewater Effluent Disinfection and Suspended Solid Reduction. *Journal of Environmental Engineering*, v. 141, p. 04014090 (1) – 04014090(10), 2015.
- VISENTAINER, J. V., FRANCO, M. R. B.. Ácidos Graxos em Óleos e Gorduras: Identificação e Quantificação, *Ed. Varela*, São Paulo, p.120, 2006.
- VISENTAINER, J. V.. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. *Química Nova*, v.35, n. 2, p. 274-279, 2012.
- VON SPERLING, M.. Princípios básicos do tratamento de esgotos. 1ª ed, *Departamento de Engenharia de Saneamento Ambiental – UFMG*. Belo Horizonte, 1996.
- VON SPERLING, M.. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto. Vol.1. 3ª ed, *Departamento de Engenharia de Saneamento Ambiental – UFMG*. Belo Horizonte, 2005.

- VON SPERLING, M.. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto. Vol.1. 4ª ed, *Departamento de Engenharia de Saneamento Ambiental – UFMG*. Belo Horizonte, 2014.
- WHEELER, D. H.. Peroxide formation as a measure of autoxidative deterioration. *Oil and Soap, Before Oils Chemists*, Chicago. p. 89 – 97, 1932.
- WILLSON, R. M.; WIESMAN, Z.; BRENNER, A.. Analyzing alternative bio-waste feedstocks for potential biodiesel production using time domain (TD)-NMR. *Waste Management*, v. 30, p. 1881–1888, 2010.
- YI, W.; SHA, F.; XIAOJUAN, B.; JINGCHAN, Z.; SIQING, X.. Scum sludge as a potential feedstock for biodiesel production from wastewater treatment plants. *Waste Management*, v. 47, p. 91–97, 2016.
- ZIVKOVIC, S. B.; VELJKOVICK, M. V.; BANKOVIC-ILIC, I. B.; et al. Technological, technical, economic, environmental, social, human health risk, toxicological and policy considerations of biodiesel production and use. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.79, p. 222–247, 2017.

ANEXOS

Relatório de Ensaio Nº: 4289.2017.B- V.0

01. Dados Contratação:

Identificação do Laboratório:

Razão Social: Labsam - Serviços Ambientais Lab. Tec. Ltda

CNPJ/CPF: 11.898.088/0001-27

Inscrição Estadual: Isento

Endereço: Rua João Alfredo, 355 Bairro: Zona 04 Cidade: Maringá/PR CEP: 87014220

Email: supervisao@labsam.com.br

Telefone: (44) 3225-0675

Home Page: http://www.labsam.com.br

Fax: (44) 3225-0675

Solicitante:

Razão Social: Universidade Estadual de Maringá

CNPJ/CPF: 79.151.312/0001-56

Endereço: Avenida Colombo, 5790 Jardim Universitário - Maringá/PR CEP: 87020900

Proposta Comercial: 1081.2017.V0

Contato: Grace Anne Vieira Magalhães Ghiotto email: gremagalhaes@gmail.com Fone: (44) 30114-766

02. Dados da Amostra fornecida pelo Cliente:

Descrição do Ponto de Coleta: Lito Secagem - Estação de Tratamento de Esgoto

Endereço Coleta: Avenida Colombo, 5790, Jardim Universitário - Maringá/PR CEP: 87020900

Matriz da Amostra: Lodo e Derivados

Origem da Amostra: Produtos Derivados de Lodo

Característica da Amostra: Simplex

Data de Coleta: 03/08/2017 15:00:00

Data de Recebimento: 08/08/2017 08:48:22

Responsável pela Coleta: Grace Anne Vieira Magalhães

Data Conclusão Amostra: 10/08/2017

Responsável pela Conferência: Jessica Pelizer

Data da Conferência: 11/08/2017

Resultados

Parâmetros	Resultados Analíticos	Res. CONAMA nº 375/06	Un	L.Q./ Faixa	Início Ensaio
Contagem de Coliformes Totais	<1,0	-	UFC/g	1,0	08/08/2017
Contagem de Escherichia coli	<1,0	-	UFC/g	-	08/08/2017

Referências Metodológicas

Parâmetros	Metodologia
Contagem de Escherichia coli,	Guia interpretação p/ cont. de Colif. Tot. Termot. e E. Coli
Contagem de Coliformes Totais,	SM 9222 (Membrana Filtrante)

Legislação: Valores de referência estabelecidos conforme Resolução CONAMA nº 375 de 29 de Agosto de 2006

Referência(s) Normativa(s):

- 3M Company
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22th Edition

Legenda:

UFC/g - Unidade Formadora de Colônia por Grama,

Relatório de Ensaio tipo B

L.Q. - Limite de Quantificação, VMP - Valor Máximo Permitido, N.A. - Não Aplicável

4. Resultados

- 4.1. Este Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido por inteiro e sem nenhuma alteração.
4.2. Os resultados apresentados são válidos somente para a amostra analisada.
4.3. Os valores de incerteza de medição dos ensaios serão disponibilizados sob solicitação do cliente.

5. Plano de Amostragem

- 5.1. O Plano de Amostragem é composto pelos registros RQ-15, RQ-18, RQ-47 e procedimento POP-LAB-07.


Jéssica Polzer Alves
Supervisora Técnica


Aparecida Izeli
C.RP-Pr 2566

Código de Verificação: 00017351811767470201700000

