

ÍNDICE

- 32** **Estudo da Qualidade e da Fotodegradação dos Óleos Essenciais Comerciais de Capim Limão (*Cymbopogon citratus*)**

*Quality and photodegradation study of commercial essential oils from lemongrass (*Cymbopogon citratus*)*

- 49** **Efeito do aquecimento em micro-ondas no índice de acidez do biodiesel durante a reação de transesterificação**

The effect of microwave heating on the acid value of the biodiesel produced by transesterification reaction

- 57** **Otimização do processo de recuperação de lubrificante usado por extração com solventes polares**

Optimization of spent lubricant recovery process by extraction using polar solvents

- 67** **Bioprospecção em algumas espécies de microalgas do Nordeste do Brasil em relação ao seu uso potencial para produção de biodiesel**

Bioprospecting in some species of microalgae from the Northeast of Brazil in regarding to its potential use for biodiesel production

Estudo da Qualidade e da Fotodegradação dos Óleos Essenciais Comerciais de Capim Limão (*Cymbopogon citratus*)

Quality and photodegradation study of commercial essential oils from lemongrass (*Cymbopogon citratus*)

¹Andrey Lopes*; ²Carla M. Fernandez; ³José E. Gonçalves; ¹Leticia Fernanda Bastian; ²Mauricio Ferreira da Rosa; ¹Paula C. Frohlich; ¹Sabryna I. G. Costa; ¹Viviane da Silva Lobo.

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Toledo

² Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus Toledo

³ UNICESUMAR, Centro Universitário Cesumar

*andrey_lopes23@hotmail.com

Trabalho apresentado por ocasião do 55º Congresso Brasileiro de Química, realizado em Goiânia

Submetido em 19/05/2016; Versão revisada em 25/08/2016; Aceito em 02/09/2016

Resumo

No intuito de avaliar a qualidade dos óleos essenciais de Capim Limão (*Cymbopogon citratus*) disponíveis no comércio nacional, determinaram-se as suas propriedades principais. Os óleos essenciais são misturas de substâncias, que, em presença de luz e temperatura, degradam-se. Seis amostras foram submetidas a testes de caracterização, assim como a amostragem padrão. Foi possível observar uma grande discrepância na composição química das amostras 2, 3, 4, 5 e 6, apresentando baixos índices de refração e elevada densidade. A amostra 1 e a amostra padrão, se mostraram conformes a literatura, próximas da indicação de pureza. Para os constituintes majoritários verificou-se 39,42% de Neral e 50,49% de Geranial, para a amostra 1 e 32,93% de Neral e 43,94% de Geranial para a amostra padrão. Ficou demonstrada a diversidade na composição do óleo essencial, assim como sua instabilidade à luz, sendo necessária uma forma de acondicionamento adequada.

Palavras-chave: Óleo Essencial, Capim Limão, Fotodegradação.

Abstract

In order to evaluate the quality of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oils available in the national market, their main properties were checked. Essential oils are mixtures of light- and temperature-sensitive substances which decompose in the presence of light and temperature. Six samples were subjected to characterization tests as well as a standard sampling. A great discrepancy in the chemical composition of the samples 2, 3, 4, 5 and 6 was observed, presenting low refractive index and high density. The sample 1 and the standard sample, proved their indication of purity, also in accordance with literature. The major constituents were Neral and Geranial in sample 1 (39,42 wt% and 50,49 wt%, respectively) and the standard sample (32,93 wt% and 43,94 wt%, respectively). It was demonstrated the diversity of chemical composition of the essential oil, as well as its instability under light, requiring an appropriate packing procedure.

Keywords: Essential Oil, Lemongrass, photodegradation.

INTRODUÇÃO

Segundo a Resolução - RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007 (BRASIL, 2007), Óleos Essenciais (OEs) são produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado). Podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados. Entende-se por retificados, os produtos que tenham sido submetidos a um processo de destilação fracionada para concentrar determinados componentes; por concentrados, os que tenham sido parcialmente desterpenados; por desterpenados, aqueles dos quais tenha sido retirada a quase totalidade dos terpenos.

Na indústria alimentícia podem atuar como antioxidantes e antibacterianos, além de reproduzir o sabor e odor da planta utilizada. Cerca de 300 diferentes tipos de óleos essenciais são comercializados, apesar de serem conhecidos aproximadamente 3.000 tipos de óleos essenciais (BUSATTA, 2006).

O emprego de essências começou nas antigas civilizações, quando o homem descobriu o fogo e percebeu que ao queimar determinados arbustos e resinas, estas exalavam um aroma intenso. Na Idade Média, a busca pela pedra filosofal levou os alquimistas a realizarem inúmeras experiências, que contribuíram no desenvolvimento de processos para a extração dessas essências (JAKIEMI, 2008).

Os alquimistas perceberam que podiam sentir a presença das plantas aromáticas mesmo quando estas já haviam sido retiradas do recinto, devido ao aroma liberado. Isso os levou a buscar a quinta essência da matéria. Paracelsus, alquimista do século XVI, usou vapor para conseguir isolar o que ele chamou de “a alma da planta” ou a quinta essência daquele ser. Portanto, ele conseguiu isolar substâncias que continham o aroma. Essas substâncias, tal qual o óleo, não se misturavam com

a água, de onde surgiu o nome óleo essencial. Hoje em dia, mesmo não havendo óleo ou lipídeos, nem sendo essencial, o termo óleo essencial ou essência é utilizado no mundo todo (BLANCO *et al.*, 2013).

As primeiras referências históricas importantes provêm do Oriente, especialmente do Egito, onde os óleos essenciais eram usados para embalsamar múmias e para fazer oferendas nas cerimônias religiosas e, muitas vezes, eram colocados em recipientes com detalhes em ouro que seguiam juntos para os túmulos dos grandes faraós. Na tumba de Tutancâmon, por exemplo, foram encontrados óleos aromáticos de cedro, mirra e zimbro. Os gregos adquiriram conhecimentos dos egípcios e o transmitiram aos romanos que, a partir de 45 a.C., adotaram o uso dos óleos essenciais para rituais religiosos e funerários, perfumando não somente o corpo, mas também a mobília da casa (BIOMIST, 2013).

Os óleos essenciais são o conjunto de substâncias químicas produzidas pelas plantas com a função na maioria das vezes de autodefesa ou de atração de animais polinizadores. A planta produz óleos essenciais nas seguintes partes: flores, cascas de frutos (denominados cítricos), folhas e pequenos grãos (“*petitgrain*”), raízes, cascas de árvores, resinas da casca e sementes (WOLFFENBUTTEL, 2007).

Denominam-se tricomas, as “bolsas” onde ficam encapsulados os OEs na planta. Estes tricomas são rompidos naturalmente pela espécie vegetal, liberando o OE, que forma uma espécie de “nuvem aromática” ao seu redor. Por isto, são denominados como sendo “A alma da planta” ou “A energia vital da planta”. São compostos secundários produzidos pela planta assim como os alcaloides, flavonoides e saponinas (WOLFFENBUTTEL, 2007). São encontrados em estruturas especiais de secreção, como cavidades, canais esquizógenos ou lisígenos, canais oleíferos, pelos glandulares e células parenquimáticas diferenciadas presentes nos órgãos vegetais: embriões, flores, casca, folhas,

talos, frutas, sementes, lenho e raízes. Cujos quais, na maioria das plantas, apenas um será o responsável pela produção dos óleos essenciais (CRAVEIRO; QUEIROZ, 1993).

Os tricomas também são rompidos durante os processos intencionais de extração do óleo essencial. Existem inúmeros processos industriais e artesanais de extração, alguns deles são: Extração a vapor (mais conhecido e comum); Extração por hidrodestilação (bastante utilizado em bancadas de laboratórios); Extração supercrítica (utilizado principalmente em pesquisas de universidades); Extração subcrítica; Extração por gás refrigerante; Extração por extrusão ou prensagem (utilizado por indústrias de sucos cítricos); Extração a vácuo; Extração enfleurage (tradicional e ainda utilizado); Extração por solvente; Extração por óleo (para fins culinários e de massagem) (WOLFFENBUTTEL, 2007).

Quando extraídos por processos físicos, dão origem a extratos líquidos à temperatura ambiente, de elevada à média viscosidade (oleoso), hidrofóbico e que reproduz o odor e o sabor da fonte vegetal utilizada (SANTOS, 2002). Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas. Frequentemente apresentam odor agradável e marcante. São frequentemente extraídos das partes vegetais através de arraste a vapor d'água, hidrodestilação ou expressão de pericarpo de frutos cítricos, porém há outros métodos de extração como a enfleurage ou enfloração, extração por CO₂ supercrítico (muito utilizado na indústria) e por solventes orgânicos apolares (não apresentam valor comercial) (MORAIS, 2009).

As características físico-químicas dos óleos essenciais são comuns, apesar de apresentarem composições químicas diferentes, são geralmente insolúveis, ou pouco solúveis em água, solubilizando-se em álcool, éter e em muitos solventes orgânicos. Apresentam alto índice de

refração e são opticamente ativos (ROBBERS; SPEEDIE; TYLERI, 1997).

Os OEs possuem grande aplicação na perfumaria, produtos de higiene e limpeza, cosmética, alimentos e como coadjuvantes em medicamentos. São empregados principalmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais e comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (BIZZO, 2009).

Eles possuem uma grande rede de aplicações em diversos setores, um ponto ainda pouco estudado é área da homeopatia, ou ainda o desenvolvimento para a utilização dos óleos na área da saúde. De acordo com Wolffebuttel (2007) óleos essenciais específicos estão sendo utilizados no tratamento de pacientes com problemas na área da memória e mesmo em casos de amnésia total, mal de Alzheimer e demência vascular.

Quanto à citronela por exemplo, foram exportados US\$ 89,7 mil relativos a 5,7 t (15US\$/kg), oriundos principalmente dos estados do Rio Grande do Sul e São Paulo. Em relação ao capim-limão, foram exportados US\$ 150,5 mil relativos a 9,6 t, oriundos principalmente do estado de São Paulo e para a UE (Alemanha, Reino Unido e Espanha). A importação foi de US\$ 150 mil correspondentes a 6,8 t (BIZZO, 2009).

No Estado do Paraná, as espécies mais importantes são a camomila e o gengibre, porém outras espécies como o capim limão e eucalipto vêm sendo exploradas. O Estado é responsável por 10% das importações de óleos essenciais de diversas plantas. Estes dados revelam a necessidade de expansão desse mercado, tanto no Paraná como no Brasil (BARATA; VILHA; CARVALHO, 2005).

Embora sejam registradas movimentações comerciais de diferentes tipos de óleo de menta no sistema ALICE-Web (Sistema de Análise das

Informações de Comércio Exterior da Secretaria de Comércio Exterior, do Ministério do Desenvolvimento e Indústria e Comércio Exterior), a mais significativa em volume e valor está associada ao óleo essencial de *Mentha arvensis* (menta japonesa). Esta cultura foi introduzida no Brasil por imigrantes japoneses e se estabeleceu em São Paulo e no Paraná, ainda nos anos 30. Com a Segunda Guerra Mundial e a interrupção no fornecimento de mentol da Ásia, parte da demanda passou a ser suprida pelo Brasil. No período de 2005 a outubro de 2008, as importações de óleo essencial de mentas contabilizaram US\$ 52.718 mil relativos a 3.391 t, sendo 76% de OE de *M. arvensis*, contra uma exportação de 305 t (BIZZO, 2009).

Os óleos obtidos diretamente das plantas concorrem diretamente com produtos sintéticos, tendo como principal diferencial o custo. A indústria alimentícia tem se voltado para a utilização de produtos cada vez mais naturais e está preferindo utilizar aromatizantes extraídos de plantas, porém a falta de pesquisa das composições, princípios ativos e toxicidade dos componentes ainda impede que estes sejam utilizados em escala industrial (JAKIEMIU, 2008).

Apesar de suas características benéficas, não se pode descartar os efeitos tóxicos destas substâncias, as quais podem provocar desde uma simples reação cutânea a efeitos convulsivantes e psicotrópicos (FABROWSKI; BAKER, 2002).

Cymbopogon citratus é conhecido popularmente no Brasil como capim-limão, capim-cidrô, capim-cheiroso, capim-cidreira, capim-cidrão e citronela-de-java. Pertence à família das Gramíneas, subfamília *Panicoideae*. É uma planta aromática cultivada para produção comercial de óleo essencial, conhecido internacionalmente como óleo de *Lemongrass*, do inglês, *Lemon-Limão* e *Grass-Grama/Capim* (GUIMARÃES, 2008).

Cymbopogon citratus é uma espécie originária da Índia e largamente distribuída por vários países tropicais, entre eles o Brasil, onde

assume diferentes sinônimos conforme a região onde se encontra. Constitui-se de uma erva perene, que forma touceiras compactas e robustas de até 1,2 m de altura, com rizoma semi-subterrâneo. O chá das folhas da espécie tem larga utilização popular para nervosismo, febre, tosse, dores diversas (dor de cabeça, abdominais, reumáticas) e alterações digestivas como dispepsia e flatulência. Também é aproveitada com finalidades agrônômicas para composição de cercas-vivas e na contenção de encostas para evitar a erosão, mas a sua maior importância econômica reside na produção do seu óleo essencial, rico em citral e largamente utilizado na indústria de alimentos e cosméticos.

Este óleo essencial possui forte odor de limão e é largamente empregado como aromatizante em perfumaria e cosmética, na preparação de colônias, sabonetes e desodorantes, porém, seu maior emprego tem sido na indústria farmacêutica, servindo de material de partida para síntese de importantes compostos, como iononas, metil-iononas e vitamina A (CARVALHO et al, 2003).

Em geral, os óleos essenciais na presença de oxigênio, luz, calor, umidade e metais são muito instáveis, sofrendo inúmeras reações de degradação, o que dificulta a sua conservação, fazendo com que o seu processo de armazenamento seja fundamental para a manutenção de sua qualidade. Guimarães (2008) conclui ainda em seus estudos com relação ao óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (Capim Limão), que, para fins de comercialização, deve ser estocado ao abrigo da luz, não necessitando de temperaturas muito baixas para seu armazenamento.

A maioria dos óleos voláteis possui alto índice de refração e são opticamente ativos, sendo que essas propriedades são utilizadas na sua identificação e no controle de qualidade. Os óleos voláteis também podem ser avaliados através de ensaios como: miscibilidade com o etanol, índice de

refração, poder rotatório, densidade, determinação dos índices de acidez, de ésteres, de carbonilas, além de análises cromatográficas (CCD cromatografia de camada delgada, CG cromatografia gasosa, CLAE cromatografia líquida de alta eficiência) (SIMÕES *et al.*, 2004).

Assim, um dos problemas dos óleos essenciais é a fotossensibilidade, que caracteriza a estabilidade do óleo frente à luz, seja solar ou artificial. Este é um dos fatores que determina a validade de um produto, sendo necessário encontrar uma metodologia e procedimentos que determinem a real influência da luz nas propriedades dos óleos essenciais e que aumentem seu tempo de vida (VIEIRA, 2010).

A temperatura e a luminosidade apresentam papel relevante na fotossíntese, pois a interação destes fatores garante um ambiente ideal para o processo fisiológico. Apesar de as espécies terem se adaptado ao seu *habitat natural*, os vegetais são capazes de resistir a variações de temperatura. Estas variações são responsáveis pelas alterações na produção de metabólitos secundários. Os óleos essenciais, na maioria das vezes, apresentam um aumento em seu teor quando as plantas produtoras se encontram em ambientes com temperatura elevada, porém, em dias muito quentes, pode-se observar perda excessiva dos mesmos. A intensidade luminosa é um fator que influencia a concentração bem como a composição dos óleos essenciais. Como exemplo, o desenvolvimento dos tricomas glandulares (estruturas vegetais que biossintetizam e armazenam o óleo essencial) de *O. basilicum* e *T. vulgaris* são processos dependentes de luz. A radiação solar intervém diretamente sobre o crescimento e o desenvolvimento da planta, e indiretamente, pelos efeitos no regime térmico, sendo fundamental à produção de fitomassa (MORAIS, 2009).

Após a colheita, inicia-se um processo de degradação nas plantas, devido ao aumento da

atividade enzimática, levando também à degradação dos princípios ativos presentes nas mesmas. Para minimizar esses efeitos, as plantas medicinais devem ser consumidas ou secas (REIS; MARIOT; STEENBOCK, 2003). A secagem deve ser realizada corretamente para preservar as características de cor, aroma e sabor do material colhido e deve ser iniciada o mais rápido possível (MAPA, 2006).

Devido à ampla área empregada dos óleos essenciais, como homeopatia, farmacêutica, alimentícia e outras, o estudo da degradação e do comportamento qualitativo dos óleos em função do tempo se torna extremamente necessário para avaliação da qualidade destes óleos dispostos comercialmente para venda, propiciando um avanço nos cuidados de processamento e distribuição destes produtos.

No intuito de avaliar a qualidade intrínseca nos óleos essenciais comerciais de *Cymbopogon citratus*, de diferentes fabricantes nacionais, o presente trabalho teve como objetivo a realização de testes laboratoriais, que visam a caracterização dos OEs, bem como sua comparação com amostras padronizadas e com as respectivas literaturas. Com isso, possibilitando a comprovação científica adequada da necessidade de melhores cuidados de processamento e armazenamento dos óleos essenciais, bem como sua respectiva fotossensibilidade perante a luz. Muitas vezes estes óleos são adquiridos informando serem puros e com determinada concentração, porém com o modo de processamento e de armazenagem, estes óleos acabam não seguindo as informações rotuladas, principalmente com o passar do tempo sob uma forma de armazenamento incorreta.

O presente estudo torna-se de grande relevância, em nível de caracterização destes óleos e para o desenvolvimento de novas tecnologias em várias áreas, desde o desenvolvimento de métodos para melhoramento da qualidade ou de aumento do tempo de vida útil, assim como novos métodos de

aplicabilidade em relação à forma de consumo e desenvolvimentos de novos produtos e novas aplicações. Durante o desenvolvimento e a utilização destes óleos, suas respectivas fotossensibilidades devem ser consideradas, evitando-se uma má eficácia do produto e uma melhor qualidade.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Amostragem

Foram utilizadas seis amostras de seis diferentes fabricantes nacionais de óleos essenciais de Capim Limão obtidas em diferentes regiões do país, não específicas e aleatoriamente, mantidas à temperatura ambiente, do mesmo modo que os locais de comercialização e estocagem. As amostras foram relacionadas de acordo com o tipo de embalagem e sua coloração conforme Tabela 1.

Tabela 1: Relação de amostras utilizadas.

Identificação	Detalhamento
Amostra 1	Fabricante 1 - Frasco Âmbar + caixa de papelão
Amostra 2	Fabricante 2 - Frasco plástico fosco branco
Amostra 3	Fabricante 3 - Frasco plástico transparente
Amostra 4	Fabricante 4 - Frasco Âmbar
Amostra 5	Fabricante 5 - Frasco Âmbar
Amostra 6	Fabricante 6 - Frasco plástico transparente escuro
Amostra P	Padrão Extraído - Ependorf plástico + papel alumínio + refrigerador

A amostra 6 foi adquirida comercialmente, como sendo de Capim Limão (*Cymbopogon citratus*), informação afirmada pelo comerciante, porém avaliando-se tecnicamente, foi possível verificar que se tratava de OE de Erva Cidreira, uma planta herbácea da família da menta e da hortelã, utilizada como especiaria, tendo seu aroma muito parecido com o Capim Limão, que usualmente também é chamado de Capim Cidreira, ocasionando este tipo de confusão. Devido a tal problema de igualdade, achou-se conveniente avaliá-la, denotando assim suas possíveis semelhanças e diferenças.

Para efeito comparativo, foi utilizada uma amostra de óleo essencial extraído através de

hidrodestilação pelo método de Clevenger, de plantas cultivadas na região de Toledo-PR. As plantas foram colhidas em meados do mês de Julho ao final da tarde, não sendo o melhor horário para esta prática conforme afirma Moraes (2009), onde o melhor horário para a colheita em termos de rendimento e de maior concentração de componentes majoritários seria no início da manhã, próximo do meio dia ou 13 h. Logo após a colheita procedeu-se com a limpeza com água corrente e em seguida com a extração do OE. O OE foi armazenado em frasco Ependorf, envolto por papel alumínio, em refrigerador com temperatura aproximada de 5 °C.

Os métodos de hidrodestilação e arraste à vapor são os mais utilizados para plantas de ervas condimentares, devido a sua grande eficácia e facilidade em termos de aparelhagem e processo. Segundo SIMÕES *et al.* (2004), o método de arraste à vapor consiste no contato da planta com o vapor d'água, abrindo as cavidades celulares e interagindo com os óleos essenciais e estes são levados pelo vapor d'água devido as interações intermoleculares de grande diluição da água e sua evaporação à temperatura utilizada. A solução de água e óleo essencial é condensada em um condensador e naturalmente são separados devido a diferença de densidade e a hidrofobicidade do óleo.

O aparelho de extração de Clevenger consiste em um sistema de extração por arraste à vapor ou por hidrodestilação que após a condensação da solução de água o óleo essencial é separado em um sistema onde o óleo é automaticamente separado da água por decantação em um tubo que pode ser graduado ou não e que possui um retorno da água ao sistema de extração que depende da densidade específica do óleo essencial extraído para seu formato.

O alto teor de água presente nas células e tecidos das plantas, em torno de 60% a 80%, faz com que a secagem tenha importância fundamental para evitar a fermentação ou degradação dos

princípios ativos. A secagem deve ser realizada corretamente para preservar as características de cor, aroma e sabor do material colhido e deve ser iniciada o mais rápido possível (MAPA, 2006). O excesso da umidade pode ocasionar a ação de enzimas e acarretar na degradação de constituintes químicos, além de possibilitar o desenvolvimento de fungos e bactérias.

Na extração do OE das plantas, foi utilizado um aparelho em Inox modelo FL76/I da FORLAB através do método de Clevenger. O óleo se separa da água e fica retido no sistema por decantação, este óleo foi retirado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. Não se fez necessário a utilização de sulfato de magnésio anidro para a absorção da água contida no óleo, pois foi possível coletar somente o OE sem a presença de água, devido à grande quantidade de planta utilizada e OE obtido



Figura 1: Aparelhagem utilizada para extração do OE

Densidade relativa D_{20}^{20}

Uma das análises de caracterização que pode ser empregada é a determinação da densidade relativa (D_{20}^{20}) que pode ser obtida por meio da relação massa/volume utilizando-se o auxílio de um picnômetro ou uma micropipeta. As utilizações destes aparelhos são as mais indicadas devido à quantidade de amostra necessária para as análises, pois os óleos essenciais são produtos de baixo rendimento por massa de matéria vegetal utilizada.

Primeiramente é realizada a calibração do instrumento com água destilada, e comparando-se com os valores obtidos no mesmo procedimento realizado com óleo essencial.

As amostras, comerciais e padrão, foram pesadas em uma balança analítica e medidas utilizando-se uma micropipeta DIGIPET, calibrada com faixa de atuação de 10 a 1000 μL adaptada da FARMACOPEIA (1988). Através do princípio de densidade (massa/volume), obtiveram-se as densidades específicas de cada OE, mesmo princípio utilizado por Santos (2014). A relação entre a massa da amostra e a massa da água (substância padrão), ambas à mesma temperatura, representa a densidade relativa da amostra ensaiada (ANVISA, 2007).

Índice de refração

De acordo com VIEIRA (2010), basicamente o índice de refração de uma substância é a relação entre a velocidade da luz no ar e sua velocidade nesta substância. Com a presença ou falta de compostos na composição dos óleos essenciais o índice de refração se alterará, pois devido às características de cada fórmula química destes compostos, estes iram refletir a luz emitida de diferentes formas alterando o índice analisado.

O índice de refração das amostras foi determinado utilizando-se um aparelho refratômetro de Abbe (marca DIGIT) de acordo com a metodologia descrita pela norma NBR 5785 – Óleos essenciais – determinação do índice de refração (ABNT, 1985). Calibrou-se o refratômetro com água destilada.

Obtenção dos Espectros UV-VIS

Segundo HOLLER, SKOOG e CROUCH (2009), a espectrometria de absorção molecular nas regiões espectrais do ultravioleta e do visível é largamente utilizada para a determinação quantitativa de um grande número de espécies inorgânicas, orgânicas e biológicas.

A espectrometria de absorção é baseada na medida de transmitância ou de absorbância de soluções contidas em suportes transparentes com caminho óptico conhecido, e a concentração de um analito está relacionada linearmente com a absorbância conforme a lei de Beer-Lambert.

As amostras de OE foram analisadas em espectrofotômetro UV-VIS (PG INSTRUMENTS T80+), utilizando-se cubetas de quartzo a fim de se obter os espectros de absorção dos componentes presentes. Verificando-se os mesmos valores de comprimento de onda em comparação entre os espectros obtidos dos diferentes OEs é possível relacioná-los para avaliação qualitativa dos OEs. As amostras foram diluídas com etanol PA 95% de acordo com a curva de calibração adequada para a concentração ideal de análise, adequadas também as quantidades de amostra e solvente disponíveis. Utilizou-se etanol como solvente devido à ótima solubilização com o OE segundo Santos (2014).

As alterações nos pontos de máximo visualizados nos espectros poderão definir o aparecimento ou desaparecimento de compostos presentes nos OEs.

Determinação dos constituintes por CG/MS

Recentemente a identificação de terpenos e de extratos vem sendo realizada através da utilização da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/MS), aplicada à extratos de baixa e média polaridade (PATITUCCI, 1995). Patitucci (1995) ainda observa que nestas análises cromatográficas observou-se que quando se usa fases estacionárias apolares ou pouco polares nas mesmas condições de temperatura e vazão, sesqui, di e triterpenos eluem em regiões específicas do cromatograma.

De acordo com SIMÕES *et al.* (2004), o espectrômetro ioniza as moléculas do óleo essencial, separando íons de acordo com a razão m/z (massa/carga) e fornece um histograma de íons individuais com diferentes razões massas/carga,

porém os dados de retenção linear devem ser considerados para aumentar a segurança na identificação dos compostos presentes.

As amostras foram submetidas à avaliação cromatográfica utilizando um cromatógrafo CG/MS (modelo Cg 7890B), acoplado a um espectrômetro de massa MS 597^a (ambos da marca Agilent Technologies), na faculdade UNICESUMAR/PR, para identificação e quantificação dos componentes presentes nas amostras, caracterizando e qualificando as amostras de OEs avaliadas.

Assim como nos espectros UV-VIS, é possível verificar a formação ou o desaparecimento de compostos presentes nos OEs que caracterizaram as reações de degradação, assim como adulterantes, solventes, entre outros.

As análises foram realizadas nas seguintes condições: coluna HP 5MS preenchida com coluna capilar de sílica, com fragmentação entre 40-500 μ , a razão de 0,5 scan/s; gás carreador: He (1 mL/minuto); injetor e temperatura de interface a 220 °C e 240 °C, respectivamente, com razão de fluxo 1:20. Com um aumento de 3 °C/min, após 10 °C/minuto para 270 °C, mantendo a temperatura final por 5 min. Os componentes foram identificados por comparação com dados de espectro de massa da literatura e por base de dados computadorizada usando biblioteca NIST (1998). As concentrações dos compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos e expressos com valores aferidos em três análises.

Degradação do OE Extraído

O OE extraído foi submetido à degradação luminosa utilizando-se lâmpada de Hg (iluminação pública) sem o bulbo protetor, como fonte de emissão da luz em um foto reato. A lâmpada de Hg fornece irradiação tanto na região do UV quanto na região do visível conforme VIEIRA (2010). Com relação a lâmpada de vapor de mercúrio, a variação do comprimento de onda emitido abrange uma faixa de 404,7 nm a 623,4 nm, na faixa do visível, e tem

uma emissão otimizada em 365 nm, essa no UV (ITA, 2008). A degradação luminosa ocorreu durante intervalos de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 min., e a degradabilidade foi acompanhada através do método de espectrometria UV-VIS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As propriedades bioativas dos OEs podem ser comprometidas de acordo com o método de extração utilizado, modificando sua composição química, assim como seus efeitos e características organolépticas e físico-químicas.

Alguns métodos físico-químicos são utilizados na caracterização de óleos essenciais no objetivo de definir índices de pureza e qualidade, porém, não dão uma ideia de composição química específica, mas permitem estabelecer os limites mínimos e máximos das características da essência, permitindo identificá-lo e estabelecer sua qualidade (ATTI-SANTOS *et al.*, 2004).

Diversos fatores influenciam na qualidade e na composição química de um OE, incluindo a composição do solo, temperatura e clima de cultivo, presença de agrotóxico, época de colheita, partes utilizadas da planta, a espécie botânica, exposição ao sol, ventos entre outros (LÁSZLO, 2008).

Dados de literatura indicam que altas temperaturas, como as utilizadas na extração dos OEs por hidrodestilação, podem levar à degradação do germacreno D ou induzir um rearranjo molecular, originando outros compostos de natureza sesquiterpenoídica, considerados artefatos (MURARI; CARVALHO; HEINZMANN, 2008).

Os OEs obtidos comercialmente foram submetidos a análises de caracterização, assim como a amostra padrão extraída em laboratório, tida como base para comparação.

Refratometria e Densidade Relativa

As sete amostras foram submetidas à análise de refração, obtendo as medições conforme demonstrado na TABELA 2, assim como suas

respectivas densidades relativas, estas comparadas a densidade da água a uma temperatura de 25 °C, obtendo-se uma variação proveniente dos aparelhos e metodologia empregada, de 0,025 conforme indicado.

Tabela 2: Índices Físico-químicos das amostras de OE de Capim Limão.

	Índice de Refração (nD)	Densidade	Coefficiente de Variação - Densidade
Amostra 1	1,488 ± 0,0002	0,929 ± 0,025	2,774%
Amostra 2	1,446 ± 0,0002	1,209 ± 0,025	7,871%
Amostra 3	1,467 ± 0,0002	1,001 ± 0,025	3,609%
Amostra 4	1,455 ± 0,0002	1,065 ± 0,025	6,627%
Amostra 5	1,485 ± 0,0002	0,937 ± 0,025	2,029%
Amostra 6	1,490 ± 0,0002	1,346 ± 0,025	2,889%
Amostra P	1,487 ± 0,0002	0,922 ± 0,025	1,713%

As análises de Índice de refração foram realizadas utilizando somente uma única amostragem, entretanto as análises de densidade foram obtidas através de 5 repetições de cada amostra, denotando-se um máximo de 7,87% de coeficiente de variação na amostra 2, tornando-se valores confiáveis de acordo com os erros provindos de aparelhos e metodologia, em termos de impacto nos valores.

É possível visualizar a diferença entre as amostras 2, 3 e 4, comparando-as com as amostras 1, 5, 6 e P e com os valores literais de $0,9257 \pm 0,02$ para a densidade relativa e 1,4813 para o Índice de refração, conforme afirma Santos (2014). Com esta diferença, denotam-se divergências entre suas respectivas tonalidades e concentrações de seus compostos imersos.

Com estudos mais aprofundados é possível obter-se padrões fixos de comparação para os índices de refração, quanto à concentração de compostos nos OEs e quanto a possíveis discrepâncias no sentido de degradação ou de adulterações, visando um controle de qualidade e de processo. É possível reparar que essas amostras mantem os mesmos níveis de divergência em relação às suas respectivas densidades relativas.

Com os valores de densidade obtidos, é possível compará-los em termos de viscosidade,

aspecto e concentração. Muito claramente é possível perceber através da análise de densidade, possíveis adulterações, ou seja, adição de solventes ou até mesmos compostos mais estáveis e de massa molecular maior, formados por uma degradação ou outra espécie de reação.

Espectros UV-VIS

A Figura 2 mostra a quantidade de radiação absorvida pelo OE da Amostra P em relação ao comprimento de onda. Denotando-se as formas dos espectros de absorção característicos do OE de Capim Limão.

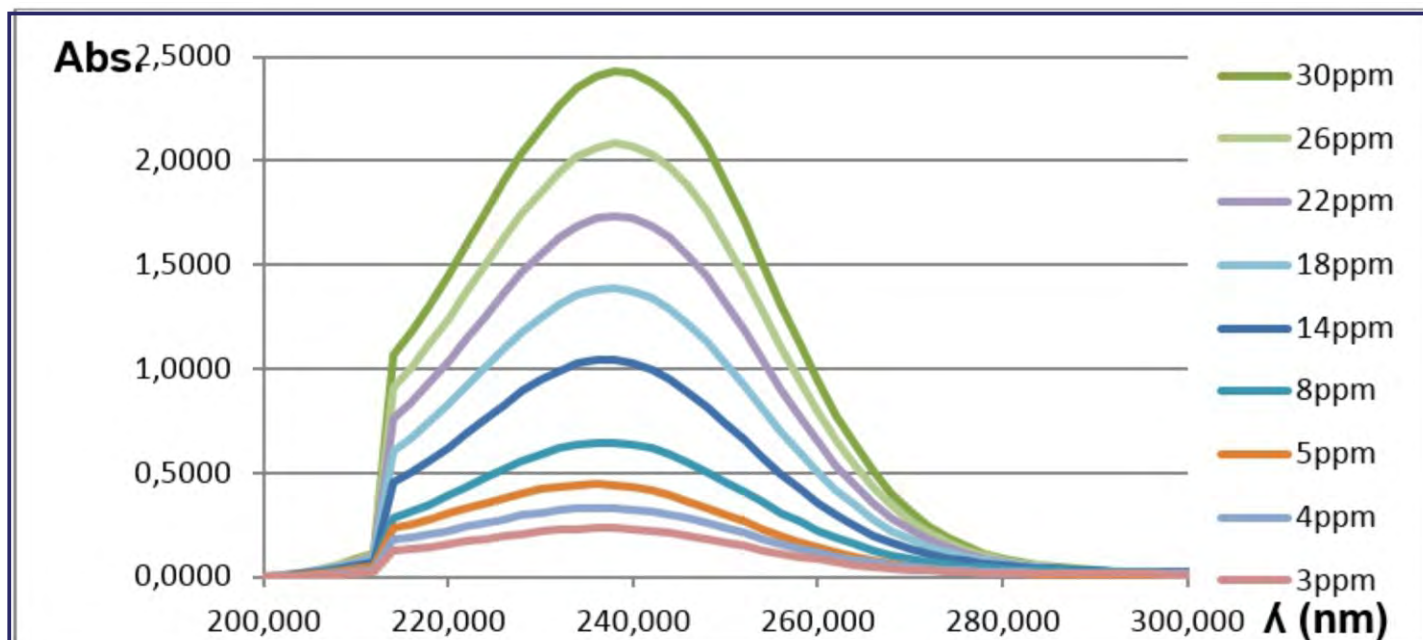


Figura 2: Espectros de absorção do OE em diferentes concentrações.

Com base nos espectros acima, observa-se que o pico máximo deu-se em torno de 238 nm.

Na finalidade de comprovar uma boa correlação entre os dados da Figura 3, apresentou-se na Figura 3 contendo a curva de calibração do OE, com base nos valores máximos de absorbância para cada concentração no comprimento de onda máximo de 238 nm.

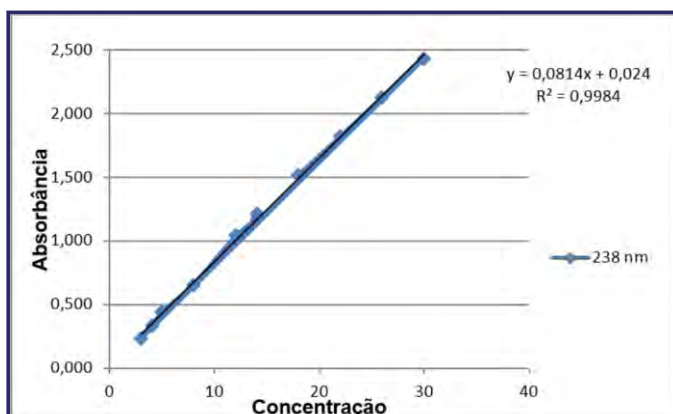


Figura 3: Curva de calibração do OE de Capim Limão $\lambda_{\text{máx}} = 238 \text{ nm}$

A concordância entre os dados da Figura 4 foi ótima, afinal, o coeficiente de correlação foi muito próximo ao valor unitário. A equação da reta é essencial para determinar a concentração do OE a ser estudado, no entanto, na calibração a equação (1) de Beer-Lambert não é uma relação linear em concentrações com absorbância acima de 1, ou seja, para a curva de calibração é interessante denotar leituras em baixas concentrações (FERNANDEZ, 2010). Contudo, mesmo utilizando uma concentração de 30 ppm, onde a absorbância foi maior do que o mencionado, devido ao baixo volume disponível de amostragem e de solvente, além do método mais preciso enquadrado a estas condições, obteve-se um resultado satisfatório entre os dados, com um ponto dentro da reta e um R^2 muito elevado.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (1)$$

Assim como Finco (2014), a escolha da solução foi para demonstrar eficácia do processo, sabe-se que a equação de Beer-Lambert tem desvios quando se trata a valores superiores a 1, na absorbância, porém, como trata-se de degradação, esse é um parâmetro independente para tal, assim, fez-se os testes em concentrações maiores para comprovar eficiência no método, mesmo nessas concentrações.

Fotodegradação

De acordo com Solomons, Fryhle e Johnson (2006), em presença de luz, compostos orgânicos podem gerar radicais devido à quebra homolítica de reações químicas, que podem reagir com outras moléculas, gerando novos radicais, bem como com o oxigênio atmosférico, gerando peróxidos, hiperperóxidos, que são compostos instáveis capazes de serem transformados em novos radicais ainda mais reativo. A degradação luminosa foi realizada na região do UV, mantendo-se a Amostra P em 30 ppm para obtenção de espectros mais claros sob a incidência de luz, provida de uma lâmpada de vapor de mercúrio de (125 W), sem o bulbo protetor, nos intervalos de tempo citados anteriormente.

A Figura 4 apresenta os dados obtidos, denotando-se uma diminuição na concentração dos compostos absorventes na região de 238 nm.

Estes compostos possivelmente reagiram gerando radicais. Segundo Guimarães (2008), a exposição deste OE a luz, acarreta na diminuição de componentes majoritários como o Mirceno e o Citral, além de originarem novos compostos como radicais. Compostos carbonílicos podem sofrer reações de fotólise quando expostos a luz, dando origem a vários produtos, inclusive radicais livres.

As amostras comerciais testadas foram submetidas à avaliação espectral, utilizando-se a mesma concentração e o mesmo espectrofotômetro conforme Figura 5.

É possível visualizar as grandes discrepâncias entre as amostras avaliadas.

Conforme já foi possível identificar nas análises de densidade e refração, pode-se afirmar que as amostras 2, 3 e 4, possuem o mesmo comportamento espectral que as amostras 1, 5 e P, porém com níveis mais baixos de concentração. Pode-se ainda denotar que a amostra 6 possui uma característica espectral diferenciada, com uma elevação na faixa de 280 nm, caracterizando um outro produto, ou conjunto de produtos em sua composição.

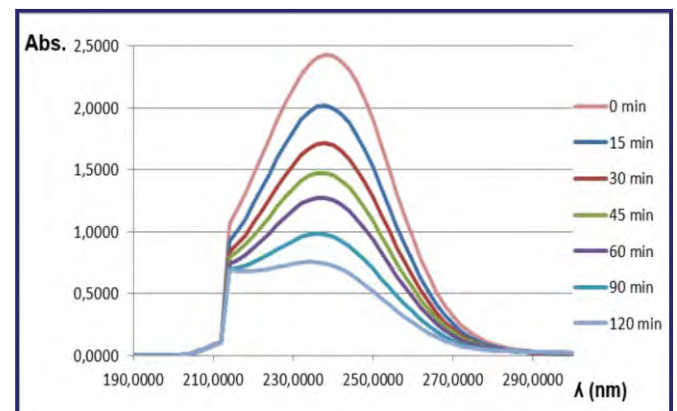


Figura 4: Fotodegradação de OE de Capim Limão.

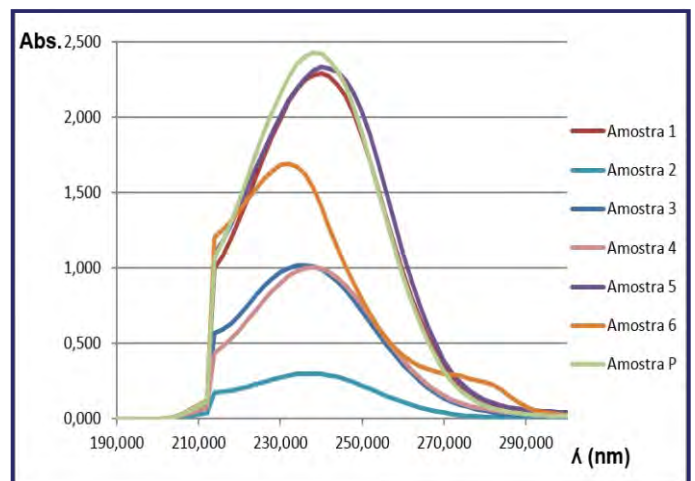


Figura 5: Espectros das amostras comerciais.

Plotando-se as Figuras 4 e 5, como visto na Figura 6, Comerciais versus Degradados, pode-se comparar os níveis de degradação luminosa das amostras comerciais, e os níveis de concentração dos compostos, avaliando suas divergências.

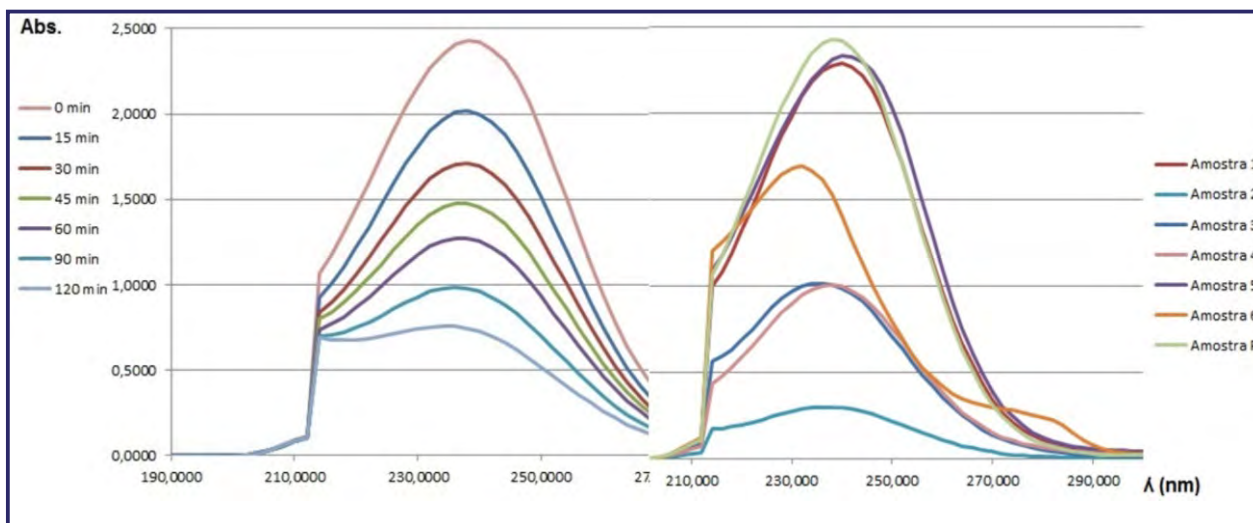


Figura 6: Espectros Comerciais vs Degradados

Análise de CG/MS

Todas as sete amostras foram analisadas em um cromatógrafo gasoso, com detecção por espectrometria de massa, onde foi possível

visualizar os principais constituintes de cada amostra. Comparando-se os resultados, conforme Tabela 3, podem-se identificar possíveis contaminantes, adulterantes e diluentes utilizados.

Tabela 3: Constituintes majoritários dos OEs detectados por CG/MS.

Constituintes	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra P
β -Citral (Neral)	39,42%	14,05%	16,85%	--	14,31%	--	32,93%
α -Citral (Geranial)	50,49%	--	18,26%	24,69%	20,62%	4,93%	43,94%
Canfeno	1,80%	--	--	--	--	--	--
cis-Geraniol (Nerol)	4,77%	--	--	--	2,06%	--	1,21%
(-)- β -Pinene	2,04%	--	--	--	0,69%	--	--
(+/-)- β -Pinene	--	--	--	--	--	--	18,90%
Cariofileno	1,45%	--	--	--	0,32%	--	--
Verbenol	--	--	--	--	--	--	1,09%
Acido Ftalico	--	--	--	--	--	--	1,90%
Dipropilenoglicol	--	76,88%	7,43%	46,14%	--	--	--
Mentol	--	--	3,79%	--	--	--	--
D-Limoneno	--	5,48%	53,63%	4,01%	6,09%	6,04%	--
m-Cimeno	--	1,99%	--	--	--	--	--
β Mirceno (β -Geraniolene)	--	1,55%	--	--	--	--	--
Carveol	--	--	--	25,12%	--	--	--
cis p Mentha 2,8 dien 1 ol	--	--	--	--	--	3,12%	--
Pulegol	--	--	--	--	0,44%	--	--
Mircenol	--	--	--	--	2,67%	3,40%	--
β -Linalool	--	--	--	--	0,54%	--	--
Vertex	--	--	--	--	0,43%	--	--
Ftalato de Dietila	--	--	--	--	50,39%	80,52%	--
Benzoato de Benzila	--	--	--	--	1,38%	1,96%	--

A maior parte dos compostos apresentados são terpenos como o Citral, Canfeno, Pineno, Cimeno, Carveol, Mirceno e Linalol, encontrados em plantas aromáticas. São encontrados naturalmente nos OEs, são metabólitos secundários, que têm sua origem explicada a partir do metabolismo da glicose. A formação dos compostos dos óleos essenciais se dá a partir da derivação química de terpenóides, originados a partir do ácido mevalônico, ou de fenilpropanóides, provindos do ácido chiquímico (GUENTHER, 1977; SIMÕES *et al.*, 2004).

A variação na composição química dos óleos essenciais pode ser facilmente explicada, pois, estes são partes do metabolismo da planta, portanto estão em constante modificação enquanto houver vida. Assim estas modificações ocasionam a transformação de uns compostos em outros, de acordo com a parte da planta, o momento de seu desenvolvimento ou crescimento, o horário do dia de sua colheita (WOLFFENBUTTEL, 2007).

Mesmo após a extração, devido à complexidade de sua composição, podem sofrer modificações físico-químicas através de reações químicas entre seus constituintes e o próprio meio, como a luz solar, enzimas, solventes e o vasilhame (WOLFFENBUTTEL, 2007).

Segundo Wolffebuttel (2007), a composição química dos óleos essenciais pode ter mais de trezentas substâncias diferentes, todos ou apenas parte destes compostos podem ser responsáveis pelo odor característico da espécie. Os componentes químicos dos óleos essenciais apresentam estruturas diversas como terpenos, sesquiterpenos, fenólicos, fenil propanoicos, alifáticos não-terpênicos, heterocíclicos, álcoois, cetonas, aldeídos, ácidos carboxílicos, ésteres e acetatos, cada qual com sua característica aromática e ação bioquímica.

Terpenóides são largamente distribuídos no reino vegetal e apresentam uma grande diversidade estrutural. A identificação destas substâncias na composição de um extrato é feita, em geral, a partir

de procedimentos exaustivos de isolamento, purificação e análises de um conjunto de métodos espectrométricos (PATITUCCI, 1995).

A composição química do Capim Limão é relatada em diversos trabalhos, sendo o citral, o mirceno seus compostos majoritários. O citral é constituído pela mistura isomérica de geranial ((2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal, citral A ou isômero E) e neral ((2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal, citral B ou isômero Z). Outros aldeídos, como o citronelal, isovaleraldeído e decilaldeído, também podem ser encontrados, além de cetonas e álcoois, como geraniol, nerol, metil heptenol e farnesol (CRAVEIRO; QUEIROZ, 1993).

O Citral, constituinte majoritário do óleo de *C. citratus*, sendo cerca de 60 à 80% do óleo segundo CRAVEIRO e QUEIROZ (1993), é citado como sendo o responsável pelas atividades atribuídas ao seu óleo essencial, tais como germicidas, repelentes de insetos, aplicações na indústria farmacêutica, entre outras. Dessa maneira, há uma grande importância em avaliar o seu teor no óleo essencial, que nas plantações brasileiras varia na faixa de 75 a 86%, valor bastante satisfatório para o mercado internacional.

O mirceno, outro composto que é encontrado em teores relativamente significantes no óleo essencial do capim-limão, é um monoterpene acíclico, de nome sistemático 7-metil-3-metileno-1,6-octadieno. Em vários estudos são demonstradas as atividades biológicas desse composto, capaz de interferir na biotransformação de drogas, como ciclofosfamidas, barbituratos, bromobenzeno quando presentes no organismo de mamíferos (GUIMARÃES, 2008).

Outro constituinte majoritário é o citronelal, utilizado como material básico para a síntese de importantes compostos químicos denominados iononas e também para a síntese de vitamina A. Este composto apresenta atividade repelente a insetos e ação fungicida e bactericida (BILLERBECK *et al.*, 2001; MUMCUOGLU *et al.*, 2004; REIS *et al.*, 2006

ATrongtokit et al., 2005; Wong et al., 2005).

O Limoneno é um terpenóide monocíclico de nomenclatura 1-metil-4-isopropenilciclohex-1-eno, muito utilizado como inseticida para o controle de ectoparasitas de animais, mais apresenta atividade contra insetos, ácaros e microrganismos. Por ser um produto natural, é um dos principais constituintes de óleo essencial de Capim Limão, assim como de laranja e limão (ROSA; 2010).

Observa-se que as amostras 2, 4 e 6 são as que possuem menores teores de Citral. Por outro lado, as amostras 1 e P apresentam os maiores teores destes constituintes, próximos dos valores literais encontrados por Guimarães (2008), acima de 69% de Citral.

Nas amostras 2, 3 e 4, observa-se a presença de Dipropilenoglicol, que conforme Mapric (2014) se trata de um solvente plástico possivelmente utilizado para a diluição destes OEs e evidencia-se ainda a presença de Pulegol, cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol e Mentol, que segundo Brito (2007) são compostos presentes em plantas “mentoladas” como a própria menta e ocasionalmente em baixas concentrações no Capim Cidreira e pouco mais altas na Erva Cidreira.

É possível evidenciar também o Ftalato de Dietila em altos teores nas amostras 5 e 6, segundo Soares *et al.* (2014) um composto sintético, muito utilizado em fragrâncias e cosméticos.

Com base nos compostos apresentados, pode-se afirmar que as amostras 2, 4 e 6, foram diluídas, sendo que se pode visualizar que a amostra 6 não se trata de *Cymbopogon citratus*, ou ainda pode estar extremamente degradada ou alterada, devido ao baixo teor de Citral e outros terpenos mais comumente encontrados, além da sua discrepância com relação a característica do espectro UV-VIS e de seus valores de densidade e índice de refração. E também a presença de compostos oriundos de plantas da família das Mentas e Hortelãs em algumas amostras, provavelmente oriundos de residuais do processo de fabricação. Não é possível

afirmar precisamente com os resultados obtidos que a amostra 6 se trata de Erva Cidreira, devido à presença de adulterante (ftalato de dietila), porém pode comprovar a desigualdade com o padrão ideal de pureza do OE de *Cymbopogon citratus*.

Os compostos orgânicos encontrados nos OEs são muito variáveis, ou seja, não possuem um padrão fixo de seus teores, as concentrações variam de acordo com o clima, região, nutrição da terra, método de colheita, assim como as partes de onde foram extraídos, ou seja, suas estruturas secretoras (COSTA, 2005).

Óleos essenciais extraídos de diferentes partes de uma mesma planta, apesar de apresentarem cor e aspecto semelhantes, podem apresentar composição química, características físico-químicas e odores diferentes (ROBBERS *et al.*, 1997).

CONCLUSÃO

Com as avaliações realizadas neste experimento, foi possível visualizar as discrepâncias nos OEs disponibilizados ao mercado nacional, que muitas vezes são comercializados como sendo puros ou de uma espécie, que na verdade não são, e a população, em sua maioria leiga, compra erroneamente.

Foi possível observar que a única amostragem, amostra 1, foi a que se enquadrou nos padrões literais, contendo os compostos característicos do OE de Capim Limão, assim como nenhum contaminante ou solvente, evidenciando um grande déficit nas qualidades presentes no mercado.

Foi possível destacar ainda, metodologias disponíveis e eficazes para o controle da qualidade destes produtos, visando à averiguação das características intrínsecas nos OEs, como densidade, índice de refração e espectrometria.

Com relação à estabilidade fotoquímica do OE, fica evidente sua instabilidade degradativa

perante a presença de luminosidade. Esta característica de degradabilidade pode ser mais bem avaliada em outras condições, como em presença de diferentes solventes, diferente temperaturas, valores de pH, entre outros.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 5785: Óleos essenciais: determinação do índice de refração**, 1985.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Gerência Geral de Cosméticos. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. Brasília, 2007.

ATTI-SANTOS, A. C. *et al.* Estudo da qualidade de amostras comerciais de óleos essenciais de Alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, Vol. 6, No. 2, pág. 44-47, 2004

BARATA, L. E. S.; VILHA, A. M.; CARVALHO, R. **Mercado de Perfumes e cosmética no Brasil**. III Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais, Campinas: IAC, 2005.

BIOMIST. **Breve história das fragrâncias**. Disponível em: <<http://www.biomist.com.br>>. Acesso em 21 agosto de 2013.

BILLERBECK, V. G. *et al.* **Effects of Cymbopogon nardus (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of Aspergillus niger**. Canadian Journal of Microbiology, Vol. 47, No. 01, pág. 9-17, 2001.

BIZZO, H. R. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, Vol. 32, No. 3, pág. 588-594, 2009.

BLANCO, M. C. S. G. *et al.* **O Óleo Essencial**. Disponível em: <http://www.cati.sp.gov.br/Cati/_tecnologias/plantas_mediciniais_aromaticas/oleo.php>. Acesso em 18 agosto de 2013.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária -

ANVISA. **Resolução - RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 20 junho de 2013.

BRITO, A. M. G.; **Avaliação da atividade antileishmanial dos óleos essenciais das plantas Cymbopogon citratus (DC.) Stapf., Eucalyptus citriodora Hook., Mentha arvensis L., e Mentha piperita L.** 2007. 75 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente – Universidade Tiradentes, Aracaju, 2007.

BUSATTA, C. **Caracterização Química e Atividade Antimicrobiana in vitro e em Alimentos dos Extratos de Orégano e Manjerona**. 2006. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai das Missões, Erechim, 2006.

CARVALHO, A. F. U. *et al.* Larvicidal activity of the essential oil from *Lippiasidodes* Against *Aedes aegypti*, **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, Vol. 98, No. 4, pág. 569-571, 2003.

COSTA, L.C.B.; CORRÊA, R.M.; CARDOSO, J.C.W.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FERRI, P.H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, Vol.23, No.4, pág.956-959, out-dez 2005.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, C. D. Óleos essenciais e Química Fina. Fortaleza: **Química Nova**. Vol. 16. No. 3. pág. 224-228, 1993.

FABROWSKI, F. J.; BAKER R. T. **Eucalyptus smithii. (Mytaceae) como espécie produtora de óleo essencial no sul do Brasil**. 2002. 225 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4 ed. São Paulo, Atheneu, 1988.

FERNANDEZ, L. G. **Conceitos de**

Espectrofotometria. 2010 Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/49880295/Aula-de-Espectrofotometria>> Acesso em: 13/01/2014

FINCO, G.; **Avaliação da Cinética de Degradação e Toxicidade do Corante Violeta Cristal por Processos Oxidativos Avançados.** 2014. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Toledo, 2014.

GUENTHER, E. **Individual Essential Oils of the plant Family Myrtaceae.** In: **The Essential Oils**, 4.ed., Vol. 4, New York, Van Nostrand, 1977.

GUIMARÃES, L. G. L. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de Capim Limão (*Cymbopogon citratus*). **Química Nova**, Vol. 31, No. 6, pág. 1476-1480, 2008

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental.** 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

ITA, Instituto Tecnológico de Aeronáutica. **Experiências e explicações físicas e químicas.** 2008.

Disponível em: <<http://www.fis.ita.br/labfis45/>>. Acesso em: 16 jan.2014, as 08:19;

JAKIEMIU, E. A. R. **UMA CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL E DO EXTRATO DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.).** 2008. 90 f. Dissertação de Mestrado - UFPR, Tecnologia de Alimentos, Curitiba, 2008.

LÁSZLO, F. **Curso Aromatologia. Módulo I.** 2008. Disponível em < <http://laszlo.ind.br/default.asp?pagina=artigo>>. Acesso em: 10 julho 2013

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares.** Ed. preliminar Brasília: MAPA/SDC, 2006.

MAPRIC, **Dipropilenoglicol (Baixo odor),** Disponível em: <http://www.mapric.com.br/anexos/boletim327_15042008_111515.pdf>, Acesso em 09 de dez. de 2014.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na

composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, Vol. 27, No. 22, 2009.

MURARI, A. L.; CARVALHO, F. H.; HEINZMANN, B. M. Composição e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus*. **Química Nova**, Vol. 31, No. 5, pág. 1081-1084, 2008.

MUMCUOGLU, K. Y. et al. Repellency of citronella for head lice: double-blind randomized trial of efficacy and safety. **Israel Medical Association Journal**, Vol. 06, No. 12, pág. 756-759, 2004.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. PC version of the NIST/ EPA/NIH Mass Spectral Database. U.S. **Department of Commerce, Gaithersburg, MD**, 1998.

PATITUCCI, M. L. Utilização de Cromatografia Gasosa de Alta Resolução na Detecção de Classe de Terpenos em Extratos Brutos Vegetais, **Química Nova**, Vol. 19, No. 3, 1995.

REIS, M. S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. **Diversidade e domesticação de plantas medicinais.** In: SIMÕES, C. M. O et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Ed. 5, Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, pág. 43-74, 2003.

REIS, G. G. et al. Estudo do efeito da secagem em convecção natural e forçada na composição do óleo essencial da citronela (*Cymbopogon nardus*). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Vol. 08, No. 04, pág. 47-55, 2006.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotechnologia.** São Paulo: Premier, 1997.

SANTOS, A. S. **Análise técnica, econômica e de tendências da indústria brasileira de óleos essenciais.** Papel Virtual, Rio de Janeiro, 2002.

SANTOS, M.S.; et al; **Extração e Caracterização Físico-Química do Óleo Essencial de Capim-Limão (*Cymbopogon citratus*)** Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/trabalhos_aceitos_detalhes,4817.html> CBQ – Congresso Brasileiro de Química, 2014.

- SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5ª ed., Florianópolis: Editora UFSC, 2004.
- SOARES, L. de S. *et al.* **Determinação de Acetaldeído e Contaminantes em Embalagens de PET e Pós-Consumo Reciclado**, Disponível em: <<http://www.revistaanalytica.com.br/artigos/16.pdf>>, Revista Analytica, Editora Eskalab, São Paulo, 2014.
- SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B.; JOHNSON, R. G. **Química orgânica**. 7ª. Ed. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos, Vol. 1, 2006.
- TRONGTOKIT, Y. *et al.* **Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites**. *Phytotherapy Research*, Vol. 19, No 04, pág. 303-309, 2005.
- VIEIRA, R. **Estudo da Fotossensibilidade do Óleo Essencial de *Rosmarinus officinalis* Acompanhada por Espectroscopia UV-VIS**. 2010. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Toledo, 2010.
- WOLFFENBUTTEL, A. N. **Óleos essenciais. Informativo CRQ-V, ano XI**, No. 105, Novembro/Dezembro/2007, pág. 06-07. 2007.
- WONG, K. K. Y. *et al.* Citronella as an insect repellent in food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Vol. 53, No. 11, pág. 4633-4636, 2005.

Efeito do aquecimento em micro-ondas no índice de acidez do biodiesel durante a reação de transesterificação

The effect of microwave heating on the acid value of the biodiesel produced by transesterification reaction

Dhielda Torquato dos Santos, Isabel Matos Fraga*, Danilo Morais Itokagi, Admilson Costa da Cunha, Marli de Amorim Silva, Mikaelly Lemes de Souza, Paulina Pedraça

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Matos Grosso - Campus Cáceres.

**isabel.fraga@cas.ifmt.edu.br*

Submetido em 06/06/2016; Versão revisada em 28/08/2016; Aceito em 02/09/2016

Resumo

A transesterificação com aquecimento em micro-ondas tem se mostrado promissora para encurtar o tempo de reação, mantendo altos níveis de rendimento na síntese de biodiesel. No entanto é possível que as micro-ondas emitidas durante o aquecimento possam promover a cisão das cadeias do óleo ou do biodiesel, aumentando a acidez. O presente estudo teve como objetivo, avaliar a influência das micro-ondas no aumento da acidez do biodiesel. Foram produzidos 18 biodieseis a partir do óleo de soja, milho e girassol por aquecimento convencional e 18 por aquecimento em micro-ondas. Os biodieseis obtidos foram avaliados quanto a seu índice de acidez. Todos os resultados de índice de acidez, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com 5% de nível de significância. Ao final da análise, verificou-se que o método de transesterificação em micro-ondas promove um aumento significativo na acidez dos biodieseis obtidos, que independe do tipo de óleo utilizado.

Palavras-Chave: Biodiesel, Micro-ondas, Acidez.

Abstract

The transesterification by microwave heating has shown potential to shorten the reaction time, maintaining high performance in the biodiesel synthesis. However, it is possible that the microwaves emitted during the heating process can split the chains of oil or biodiesel, causing an increase of acidity. This study aimed to evaluate the influence of the microwave in the increase of acidity of the biodiesel. Were produced 18 biodiesels from soybean oil, corn and sunflower by conventional heating and 18 by microwave heating. The acid index of the produced biodiesels were evaluated. All acidity index results were subjected to analysis of variance (ANOVA; $p < 0,05$). After analysis, it was found that the transesterification method in microwave promotes a significant increase in the acidity of the biodiesels, regardless of the type of oil used.

Keywords: Biodiesel, Microwave, Acidity.

INTRODUÇÃO

Segundo Volz (2009) o biodiesel é um combustível derivado de biomassa renovável para uso em motores de combustão interna com ignição por compressão ou conforme regulamento, para outro tipo de geração de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil. Assim, existem amplas possibilidades de uso do biodiesel em transportes urbanos, rodoviários, ferroviários e aquaviários, geradores de energia, motores estacionários, etc.

No Brasil, a metodologia mais utilizada para a produção de biodiesel é a reação de transesterificação alcalina, devido ao fato de ser esta mais barata e apresentar maiores rendimentos. Na transesterificação um triacilglicerídeo reage com um álcool na presença de um catalisador, produzindo uma mistura de ésteres de ácidos graxos e como subproduto, a glicerina bruta (GERIS et al. 2007). Os períodos reacionais da transesterificação alcalina, variam de 45 minutos a 1,5 hora.

O mecanismo de transesterificação também pode ser catalisado por ácidos de Bronsted-Lowry, preferivelmente por ácidos sulfônicos e sulfúricos. Os catalisadores ácidos propiciam rendimentos elevados em ésteres, no entanto a reação é lenta, exige altas temperaturas (acima de 100°C) e o mínimo de 3 horas para completar a conversão (ZAGO, 2010).

De todas as tecnologias desenvolvidas para a síntese de biodiesel, nenhuma supera a transesterificação catalisada por bases, em especial, os alcoóxidos metálicos. Essa metodologia fornece alto rendimento em ésteres e alto grau de pureza, pois a separação das fases contendo ésteres de ácidos graxos (biodiesel) e glicerina, é extremamente facilitada. A fácil separação entre o biodiesel e a glicerina se deve ao fato de a transesterificação via catálise básica requerer um menor excesso de álcool em comparação à outros processos catalíticos (MIRANDA, 2011).

Com a aprovação do projeto de lei nº

3.834/15 em março de 2016, que determina a mistura de 10% de biodiesel (B10) em todo o diesel vendido no Brasil em até 36 meses, faz-se necessário a busca por novas matérias-primas e novas tecnologias que forneçam suporte ao crescimento da produção de biodiesel na indústria brasileira (BIODIESELBR, 2016).

A fim de diminuir o tempo de reação de transesterificação, muitos pesquisadores vem investigando a reação de transesterificação com aquecimento em micro-ondas convencional ou adaptado. Essa técnica tem se mostrado promissora para encurtar o tempo de reação, mantendo os altos níveis de rendimento na síntese de biodiesel. O aquecimento em micro-ondas substitui o aquecimento convencional à altas temperaturas sob forte agitação (MOURA, MENDES e MACHADO, 2010).

As micro-ondas (MO) são radiações eletromagnéticas não ionizantes com comprimento de onda da ordem de 1 a 30 cm e com frequência no intervalo amplo de 300 MHz a 300 GHz. Nos fornos de micro-ondas domésticos e nos equipamentos para abertura de amostras, em geral é utilizada a frequência de 2,45 MHz e comprimento de onda de cerca de 12 cm (SANSEVERINO, 2002).

O aquecimento é promovido através dos mecanismos de polarização dipolar e condução iônica. Ambos os efeitos, são frutos do alinhamento de dipolos e cargas, respectivamente, de acordo com a oscilação do campo magnético. Este processo leva ao aumento de choque entre as moléculas e conseqüentemente à produção de calor (CAVALCANTE, 2011).

Algumas sínteses orgânicas envolvendo sistemas catalíticos podem ser aceleradas quando submetidas à irradiação por micro-ondas. A alteração na velocidade das reações pode ser provocada pelos efeitos térmicos e específicos geralmente associados, à interação das micro-ondas com a matéria em nível molecular (CAVALCANTE, 2011).

Na produção de biodiesel com aquecimento por micro-ondas, o meio reacional é rapidamente aquecido pelos dois mecanismos descritos anteriormente, polarização dipolar e condução iônica. Este rápido aquecimento se dá pois o meio é composto de moléculas polares (álcool e óleo) e por compostos iônicos (catalisador) (MIRANDA, 2011).

Em geral, substâncias polares absorvem bem as micro-ondas (água, acetona, etanol etc.), enquanto que substâncias menos polares (hidrocarbonetos alifáticos ou aromáticos) ou substâncias com momento de dipolo nulo absorvem as micro-ondas fracamente (MIRANDA, 2011).

Apesar de todas as vantagens em termos de encurtamento do tempo reacional da transesterificação, é possível que as micro-ondas possam ser capazes de promover a cisão das cadeias do óleo ou do biodiesel durante o processo, aumentando a acidez do produto final.

Os biodieseis com elevada acidez são indesejáveis pois são responsáveis por processos corrosivos e formação de depósitos no interior do motor. As condições em que ocorre a reação de transesterificação podem afetar a acidez final do biodiesel (DE MORAIS et al., 2013). A agência nacional de petróleo, gás natural e biocombustíveis (ANP), estabelece que para ser comercializado, o biodiesel deve apresentar uma acidez máxima de 0,5 mg KOH/g (ANP, 2014).

Dentre tantos trabalhos que investigam a utilização das micro-ondas na transesterificação, poucos estudos têm o objetivo de avaliar possíveis efeitos nocivos causados pelas micro-ondas. Portanto, torna-se necessária, uma investigação mais detalhada sobre esta propriedade tão importante quando se trata do biodiesel.

Diante do exposto, esse trabalho tem como objetivo avaliar a influência da radiação em micro-ondas liberada durante o processo de transesterificação no aumento da acidez do biodiesel.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para realização do experimento foram utilizados como matérias-primas, três diferentes óleos: óleo de milho, óleo de soja e óleo de girassol. Todos esses óleos foram adquiridos em estabelecimentos comerciais do município de Cáceres-MT.

Inicialmente, foram retiradas amostras de cada óleo para caracterização quanto a seu índice de acidez, cada análise foi realizada em triplicata.

A análise de índice de acidez foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Moretto e Fett (1998). O procedimento consiste em colocar dois gramas da amostra em um erlenmeyer adicionando-se em seguida 25 mL de solução de éter etílico: etanol (2:1) para esse recipiente. A mistura é então homogeneizada e agitada vigorosamente. Posteriormente, adiciona-se duas gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1%. Por fim, titula-se a amostra com solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M até viragem do indicador de incolor para uma tonalidade rósea. O cálculo da acidez é determinado pela equação 1.

$$IA = \frac{V \times 5,61 \times F}{M} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde:

IA= Índice de acidez;

V= Volume de NaOH gasto para titular a amostra;

5,61= É o equivalente grama do Hidróxido de Potássio (KOH);

F= Fator de correção do NaOH;

M= Massa da amostra.

Após a caracterização dos óleos, os mesmos seguiram para a etapa de síntese de biodiesel. Inicialmente foram produzidos um total de 18 biodieseis a partir da transesterificação alcalina por aquecimento convencional, sendo 6 biodieseis de óleo de milho, 6 biodieseis de óleo de soja e 6 biodieseis de óleo de girassol.

As reações de transesterificação por aquecimento convencional foram realizadas com utilização de 200 mL de óleo. A razão molar álcool:óleo utilizada foi de 8:1. O álcool adotado foi o metanol e como catalisador foi utilizado o hidróxido de potássio (KOH). A reação foi realizada à uma temperatura de 60°C durante o período de 1 hora sob constante agitação (GERIS et al., 2007).

Posteriormente foram produzidos 18 biodieseis a partir da transesterificação alcalina por aquecimento em micro-ondas doméstico. Foram produzidos 6 biodieseis de óleo de milho, 6 biodieseis de óleo de soja e 6 biodieseis de óleo de girassol. As reações de transesterificação por aquecimento em micro-ondas doméstico foram realizadas com utilização de 200 mL de óleo, a razão molar álcool:óleo foi de 8:1, o álcool utilizado foi o metanol e o catalisador foi o hidróxido de potássio. Todos os reagentes foram adicionados no balão de fundo chato, agitados manualmente e conduzidos ao micro-ondas em potência máxima. A reação ocorreu durante o tempo de 1 minuto (GERIS et al., 2007; MOURA, 2010).

Após o término da reação, tanto os biodieseis produzidos por aquecimento convencional, quanto os biodieseis produzidos por aquecimento em micro-ondas doméstico, foram conduzidos separadamente à funis de separação, totalizando 36 amostras. Nos funis de separação as amostras permaneceram por 24 horas para que houvesse a completa separação entre as fases biodiesel e glicerina. Após a separação das fases, a glicerina foi recolhida em recipiente próprio e armazenada. A fase biodiesel de cada amostra foi então lavada com ácido clorídrico, cloreto de sódio e água destilada. Após lavagem, todas as amostras de biodiesel foram filtradas com sulfato de sódio anidro para remoção de umidade, de acordo com a metodologia descrita por Geris et al., (2007).

Todos os biodieseis obtidos foram caracterizados quanto ao seu índice de acidez conforme a metodologia de Moretto e Fett (1998)

anteriormente descrita. Ao final do processo, com o objetivo de avaliar a diferença estatística entre os métodos de aquecimento, os resultados de índice de acidez de cada biodiesel obtido por aquecimento convencional e por aquecimento em micro-ondas (36 amostras), foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com 5% de nível de significância, utilizando o programa Excel 2007.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os resultados de índice de acidez (mg KOH/g) das amostras de biodiesel produzidas a partir de diferentes tipos de óleos (soja, milho e girassol) através de dois processos de aquecimento: convencional e irradiação com micro-ondas. A análise estatística destes dados visou verificar se o último método de aquecimento produz biodiesel com maiores índices de acidez.

Tabela 1
Resultados de Índices de acidez (IA) dos biodieseis obtidos pela transesterificação por aquecimento convencional e dos biodieseis obtidos por transesterificação em micro-ondas de cada tipo de óleo

Método de Aquecimento	IA (mg KOH/ g) para cada Tipo de Óleo		
	Soja	Milho	Girassol
Convencional	0,71	0,93	0,61
	0,44	0,77	0,72
	0,74	0,71	0,61
	0,77	0,65	0,7
	0,65	0,75	0,99
	0,72	0,65	0,53
Micro-ondas	1,06	0,96	0,93
	0,77	0,82	1,08
	0,99	1,07	0,92
	1,09	1,02	0,94
	0,93	1,02	0,99
	0,9	0,95	1,00

Para avaliar a diferença estatística entre os métodos de aquecimento, utilizou-se o programa Excel 2007. Empregou-se a análise de variância

(ANOVA) com 5% de nível de significância. Nesta análise, os diferentes tipos de óleos foram tratados como blocos e os métodos de aquecimento como fatores. Os resultados são apresentados na tabela 2.

Tabela 2

Resultados da análise de variância (ANOVA) com 5% de nível de significância utilizando o programa Excel 2007.

Fonte de Variação	SQ ^a	^b GL	^c QM	F	p-valor
(1) Método de Aquecimento	0,63734	1	0,6373	52,83	0,000001
(2) Tipo de Óleo	0,01172	2	0,0059	0,49	0,619766
Resíduos	0,38602	32	0,0121		
Total	1,03508	35			

^aSQ – Soma dos Quadrados; ^bGL – graus de liberdade; ^cQM – Quadrado Médio

De acordo com a análise de variância acima verifica-se que o p-valor para o fator “Método de Aquecimento” apresentou-se muito menor que 0,05 (nível de significância), indicando que o método de aquecimento influencia no parâmetro índice de acidez do biodiesel. O p-valor de 0,619766 encontrado para o fator “Tipo de Óleo”, mostra que não há diferença entre os produtos da reação de transesterificação alcalina devido aos materiais de partida.

A tabela 3 apresenta os valores médios e os desvios padrões, referentes ao índice de acidez das repetições obtidas para cada condição experimental envolvendo os fatores “Método de Aquecimento” e “Tipo de óleo”. Na figura 1 há a representação gráfica destes valores.

Tabela3

Valores médios e desvios padrões da variável índice de acidez em cada condição experimental

Método de Aquecimento	IA (mg KOH/ g) médio para cada tipo de óleo		
	Soja	Milho	Girassol
Convencional	0,67 ± 0,12	0,74 ± 0,10	0,69 ± 0,16
	0,96 ± 0,12	0,97 ± 0,09	0,98 ± 0,06

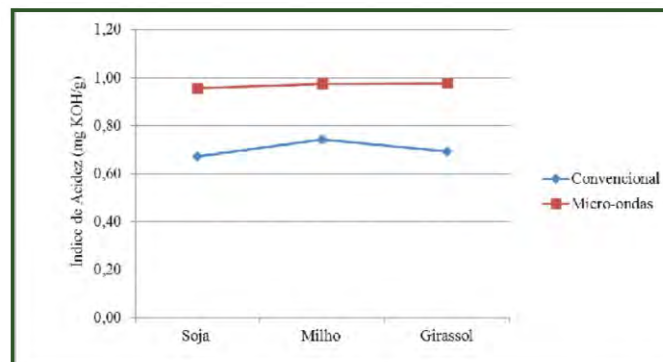


Figura 1. Valores médios de índice de acidez das seis amostras de biodiesel obtidas em cada tratamento, combinação Método de Aquecimento e Tipo de Óleo.

Na figura 1 as linhas são paralelas, evidenciando assim a falta de interação entre Bloco e Fator (entre Tipo de Óleo e Método de Aquecimento), e horizontais, indicando que os diferentes óleos não geram biodiesel com índices de acidez diferentes quando submetidos ao mesmo processo de aquecimento. Há grande espaçamento entre as linhas, demonstrando nitidamente que a utilização de irradiação em micro-ondas gera um produto final com acidez mais elevada.

Os resultados mostram que houve de fato uma diferença significativa entre os índices de acidez apresentados pelos biodieseis obtidos pelos dois diferentes métodos. Para a transesterificação em micro-ondas todos os valores de índice de acidez foram maiores.

Essa alta acidez pode estar relacionada ao choque de temperatura sofrido pelas moléculas, devido a rapidez em que ocorre o aquecimento. De acordo com Souza, Souza e Caldeira (2015), no aquecimento por micro-ondas é produzido calor dentro dos materiais processados, ou seja, o aquecimento ocorre diretamente nas moléculas dos reagentes, tornando assim o aquecimento mais homogêneo e eficiente, acelerando a velocidade da reação. Segundo Miranda (2011), o meio reacional na produção de biodiesel é rapidamente aquecido, pois este é composto de moléculas polares (álcool e óleo) e por compostos iônicos (catalisador).

Esse rápido aquecimento pode causar rupturas nas cadeias moleculares liberando

ácidos graxos no meio, o que causa um aumento na acidez do biodiesel obtido. Esse comportamento difere do aquecimento convencional, visto que o aumento na temperatura é gradativo, e o choque é evitado. Em geral, substâncias polares absorvem bem micro-ondas, enquanto que substâncias menos polares ou substâncias com momento de dipolo nulo absorvem as micro-ondas fracamente (MIRANDA, 2011).

De acordo com Moretto e Fett, (1998), o índice de acidez é definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos livres de um grama de amostra. Trata-se de um parâmetro de extrema importância quando se trata do biodiesel, uma vez que a elevada acidez indica a presença de ácidos graxos livres, e estes podem provocar corrosão do motor, ou deterioração do biocombustível (KNOTHE et al., 2006).

A determinação da acidez possui caráter fundamental para a produção de um biodiesel de qualidade. Devido à facilidade de se produzir o biodiesel, um grande problema que se enfrenta não é a sua produção mais sim a certificação de sua qualidade, uma vez, que produzir um biodiesel de modo a encaixá-lo perfeitamente em todos os parâmetros da ANP é algo mais complexo. A acidez de um óleo e do produto final é de extrema importância para se evitar problemas com relação ao processo reacional, como consumo excessivo do catalisador, ocorrência de reações paralelas ou até mesmo a não ocorrência da reação (SILVA et al., 2016).

Os biodieseis com elevada acidez são indesejáveis, pois são responsáveis por processos corrosivos e formação de depósitos dentro do motor. As condições em que ocorre a reação de transesterificação podem afetar a acidez final do biodiesel (DE MORAIS et al., 2013).

Um alto índice de acidez no combustível tem ação negativa sobre os componentes metálicos do motor aumentando a taxa de corrosão dos mesmos

(OLIVEIRA et al., 2012). O índice de acidez depende principalmente da matéria-prima utilizada. Um elevado índice de acidez pode afetar a estabilidade do biodiesel e causar corrosão e formação de depósitos nos motores. Este parâmetro de qualidade reflete o grau de degradação do biodiesel durante o armazenamento, pois aumenta gradualmente com a clivagem hidrolítica das ligações dos ésteres, ou seja, quanto maior a degradação do biodiesel maior será a acidez, principalmente quando armazenado à temperaturas elevadas (MOREIRA, 2009).

Existem inúmeras propriedades cujo controle se faz necessário no que tange ao armazenamento do biodiesel. Dentre essas propriedades, destacam-se a temperatura de armazenamento, a estabilidade oxidativa e o índice de acidez. O índice de acidez indica o grau de degradação do combustível e manifesta-se com o número elevado de ácidos graxos livres sendo liberados no meio, formando as chamadas borras. Esses ácidos graxos conferem alta acidez ao sistema (ABNT NBR 15512, 2014).

Devido à eficiência de aparelhos de micro-ondas em aquecer rapidamente meios reacionais, estes têm sido muito utilizados em diversas transformações orgânicas reduzindo seus tempos de realizações, muitas vezes de dias e horas para minutos ou segundos (SILVA, FERREIRA e SOUZA; 2006).

Segundo alguns autores, a técnica de transesterificação por micro-ondas é promissora para encurtar o tempo de reação, mantendo os altos níveis de rendimento (MOURA, MENDES e MACHADO, 2010). De acordo com Cola, Jermolovicius e Senise, (2016), a irradiação de micro-ondas acelera a reação química, elevando o rendimento dos produtos e usualmente resultando em qualidade superior dos mesmos num curto espaço de tempo.

No entanto, dentre tantos trabalhos que investigam a utilização das micro-ondas na transesterificação, poucos estudos têm sido

realizados com o objetivo de avaliar possíveis efeitos nocivos causados pelas micro-ondas. No presente estudo, foi possível observar que apesar de vantajosa, em termos de tempo reacional, as micro-ondas foram prejudiciais à estrutura molecular, sendo capaz de quebrar cadeias, conferindo uma maior formação de ácidos graxos, o que elevou a acidez do biodiesel.

CONCLUSÃO

Os resultados mostram que houve de fato uma diferença significativa entre os índices de acidez apresentados pelos biodieseis obtidos pelos dois diferentes métodos. Para a transesterificação em micro-ondas todos os valores de índice de acidez foram maiores, independentemente do tipo de óleo. Essa alta acidez pode estar relacionada ao choque de temperatura sofrido pelas moléculas, devido a rapidez em que ocorre o aquecimento.

De acordo com a análise de variância verificou-se que o p-valor para o fator Método de Aquecimento apresentou-se muito menor que 0,05 (nível de significância), indicando que o método de aquecimento influencia no parâmetro índice de acidez do biodiesel. O p-valor de 0,619766 encontrado para tipo de óleo mostra que não há diferença entre os produtos da reação de transesterificação alcalina devido aos materiais de partida.

Apesar de vantajosa, em termos de tempo reacional, as micro-ondas foram prejudiciais a estrutura molecular, sendo capazes de quebrar cadeias, conferindo uma maior formação de ácidos graxos, o que elevou a acidez do biodiesel.

REFERÊNCIAS

ABNT NBR 15512. Biodiesel-Armazenamento, transporte, abastecimento e controle de qualidade de biodiesel e/ou óleo diesel. IBP. Brasil. 2014.
AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP.

Resolução nº 45 de 2014. Disponível em: <nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/resoluções_anp/2014/agosto/ranp> Acesso em: 25 de mar. 2015.

AGENCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP. BIODIESEL – INTRODUÇÃO. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/?pg=73292&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&1447707153459>>. Acesso em: 16 nov. 2015.

Biodiesel Br. Curitiba, 26 mar. 2016. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/noticias/regulacao/politica/aumento-uso-biodiesel-sancionado-dilmarousseff-230316.htm>> Acesso em: 26 abr.

CAVALCANTE, Kiany Sirley Brandão. **Produção de éteres de glicerina com aquecimento por microondas.** 2011. 121f. Tese (Doutorado em Química), Escola de Química, Universidade Federal da Paraíba, Joao Pessoa, 2011.

COLA, Priscila; JERMOLOVICIUS, Luiz Alberto; SENISE, José Thomaz. **Processo irradiado por micro-ondas para a produção de biodiesel (4º fase).** Disponível em <http://maua.br/files/032015/202840314-Processo-Irradiado-Por-Micro-Ondas-Para-A-Producao-De-Biodiesel-4%C2%AA-FASE.pdf>. Acesso: mai 2016.

DE MORAIS, V. S. et al. Cor ASTM: um método simples e rápido para determinar a qualidade do biodiesel produzido a partir de óleos residuais de fritura. **Revista Química Nova**, v. XY, n. 00, p.1-6, 2013.

GERIS, R., et al. Biodiesel de soja – Reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. **Revista Química Nova**, vol. 30, n. 5, p.1369-1373, 2007.

KNOTHE, Gerhard et al.. **Manual de biodiesel.** São Paulo: Edgard Blücher, 2006.

MIRANDA, Sávio Eduardo Oliveira. **Produção de biodiesel por rotas etílicas e metílicas promovidas por irradiação de micro – ondas oriundas de um forno doméstico não modificado.** 2011, 121 f. Dissertação (Mestrado em Química), Faculdade de Química,

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2011.

MOREIRA, Ana Luísa de Vasconcelos. **Produção de biodiesel a partir de gordura de frango**. 2009. 61f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Faculdade de Engenharia, Universidade do porto, Lisboa, 2009.

MORETTO, Eliane.; FETT, Roseane. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998.

MOURA, B. S. **Transesterificação alcalina de óleos vegetais para produção de biodiesel: avaliação técnica e econômica**. 2010, 168f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

MOURA, B. S.; MENDES, M. F.; MACHADO J.R, H. Irradiação de microondas na transesterificação alcalina homogênea de óleo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) . **Anais** do IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas, João Pessoa, PB – 2010.

OLIVEIRA, D. S. et al. Obtenção do biodiesel através da transesterificação do óleo de *Moringa Oleífera* Lam. **Revista Holos**, n.28, v.1, p.49-61, 2012.

SANSEVERINO, A. M.; Micro-ondas em Síntese Orgânica. **Revista Química. Nova**, v.25, n.4, p. 660-667, 2002.

SILVA, Estefânio de P. et al. Determinação do índice de acidez em óleo de milho para produção de biodiesel. Disponível em <file:///C:/Users/Philco/Downloads/1810-5964-1-PB.pdf>. Acesso em 16 de abril de 2016.

SILVA, Fernando de C.; FERREIRA, Vitor F.; SOUZA, Maria Cecília B. V. de. Adaptação de forno de micro-ondas doméstico para realização de reações de transesterificação sob refluxo e catálise por argilas. **Revista Química Nova**, v. 29, n. 2, p.376-380, 2006.

SOUZA, Márcio Cleivo de Moraes.; SOUZA, Luiz Di.; CALDEIRA, Vinicius P. S. Síntese do biodiesel de ácido oleico: efeito do tipo de catalisador e da forma de aquecimento. **Blucher Chemistry Proceedings**, v.3, n.1, 2015.

VÖLZ, Maria Dolores de Ávila. **Biodiesel a partir de óleos de alta acidez: Desenvolvimento de um processo catalítico homogêneo**. 2009. 94f. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental), Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2009.

ZAGO, Márcio Antônio. **Síntese de biodiesel em reator micro-ondas usando líquido iônico**. 2010, 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de processos), Faculdade de Engenharia de processos, Universidade Tiradentes, Aracajú, 2010.

Otimização do processo de recuperação de lubrificante usado por extração com solventes polares

Optimization of spent lubricant recovery process by extraction using polar solvents

Anderson Eduardo Alcântara de Lima^{1*}, José Carlos Oliveira Santos², Marta Maria da Conceição³, Iêda Maria Garcia dos Santos⁴, Antônio Gouveia de Souza⁴, Raul Rosenhaim⁵.

¹Programa de Pós-graduação em Química, Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, Campus I..

²Unidade Acadêmica de Biologia e Química, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande

³Departamento de Tecnologia de Alimentos – CTDR, Universidade Federal da Paraíba,

⁴Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, Campus I

⁵Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal da Paraíba, Campus I.

*andersonedu@gmail.com

Submetido em 28/06/2016; Versão revisada em 31/08/2016; Aceito em 02/09/2016

Resumo

Várias alternativas de reciclagem têm sido utilizadas ao redor do mundo para recuperação de óleo lubrificante usado, cada uma com suas vantagens e desvantagens. O processo de extração por solvente é capaz de remover cerca de 10-14% dos contaminantes, o que corresponde aproximadamente a quantidade de aditivos e impurezas encontradas normalmente no óleo lubrificante usado. O presente estudo teve como objetivo determinar as condições ótimas de extração utilizando as variáveis independentes (temperatura e proporção de lubrificante:solvente) para cada solvente, propan-2-ol (IPP), butan-2-ona (MEC) e o butan-1-ol (BUT), além disso, caracterizar físico e quimicamente os lubrificantes novo, usado e recuperados. Os resultados permitiram concluir que as melhores faixas de extração são proporções de 1:6; 1:4,7 e 1:6 para os solventes IPP, MEC e BUT respectivamente, a uma temperatura de 30 °C. O solvente MEC teve um rendimento mais elevado de extração, seguida de BUT e IPP.

Palavras-chaves: rerrefino, planejamento experimental, lubrificante

Abstract

Several recycling alternatives has been used around the world for used lubricating oil recovery, each with its advantages and disadvantages. Solvent extraction process can remove about 10-14% of its contaminants, corresponding to approximately the amount of impurities and additives typically found in used lubricating oil. This study aimed the determination of optimal conditions extraction for independent variables (temperature and lubricant: solvent ratio) for each solvent, propan-2-ol (IPP), butan-2-one (MEC) e o butan-1-ol (BUT), and the physical and chemical characterization for new, used and recovered lubricants. The results showed that the best extraction ranges are the proportions 1: 6; 1: 4.7 and 1: 6 for the IPP solvents, MEC and BUT respectively, at 30 ° C temperature. The MEC solvent had a higher yield of extraction, followed by BUT and IPP.

Key words: re-refining , experimental planning , lubricant

INTRODUÇÃO

Óleos lubrificantes são derivados de petróleo largamente utilizados para fins automotivos e industriais, promovem a redução do atrito e asseguram mais eficiência em termos de consumo de combustível e potência (AL-ZAHRANI; PUTRA, 2013). Este, consiste principalmente de dois materiais, óleo base e os aditivos químicos. Estes aditivos podem ser ditiofostato de zinco, detergente, dispersantes, antioxidantes, antidesgaste, modificador de viscosidade e abaixador de ponto de fluidez. Após o período de uso recomendado pelo fabricante, o óleo lubrificante começa a perder suas propriedades iniciais não sendo mais adequado para as finalidades originais. As principais fontes de contaminação são a decomposição dos aditivos e as interações entre componentes resultantes do desgaste do motor, produzindo substâncias tóxicas e tornando-se um potencial de contaminação ambiental e de saúde (AL-GHOUTI; AL-ATOUM, 2009; SILVA et al., 2014; SILVEIRA et al., 2010; YANG et al., 2016)

Óleo lubrificante usado, quando despejados de forma indiscriminadamente, causam poluição ao meio ambiente, podendo atingir os lençóis freáticos. Já quando queimados de forma errada, gera emissões significativas de óxidos metálicos, além de gases tóxicos, como a dioxina e o enxofre (PARK et al., 2009).

Algumas opções podem ser consideradas para o descarte seguro de lubrificantes usados, como a reciclagem, craqueamento térmico e incineração. A reciclagem mostra-se como a alternativa ambientalmente e economicamente correta (USMAN; KAYODE-SOTE, 2011). Várias alternativas de reciclagem tem sido utilizadas ao redor do mundo para recuperação de óleo lubrificante usado, cada uma com suas vantagens e desvantagens (JAFARI; HASSANPOUR, 2015). Entre os processos de recuperação, o de extração de óleo base com solventes polares, mostra-se mais

atrativo, por ser um processo simples e apropriado, sendo uma forma adequada para proteção do meio ambiente (AL-ZAHRANI; PUTRA, 2013; EMAM; SHOAI, 2013; RINCÓN; CAÑIZARES; GARCÍA, 2007).

O processo de extração por solvente é capaz de remover cerca de 10-14% dos contaminantes, o que corresponde a aproximadamente a quantidade de aditivos e impurezas encontradas normalmente no óleo lubrificante usado. Neste processo, dois parâmetros são fundamentais para o sucesso da recuperação, a proporção (solvente : lubrificante usado) e a temperatura de extração, onde estes devem ser escolhidos para ser capazes de remover impurezas e aditivos e diminuir a perda de óleo base (ELBASHIR et al., 2002).

A utilização do método de planejamento experimental fatorial em estudos que abrangem muitas variáveis, vem sendo inserida tanto nas pesquisas científicas como na indústria, pois se apresenta de forma importante, tornando possível o planejamento e a realização de maneira organizada de uma quantidade mínima necessária de experimentos, economizando tempo e recursos financeiros (ARAÚJO et al., 2014).

O presente estudo tem como objetivo determinar as condições ótimas de extração utilizando as variáveis independentes (temperatura e proporção de lubrificante:solvente) para cada solvente, propan-2-ol (isopropílico), butan-2-ona (metil-etil-cetona) e butan-1-ol (1-butanol), além disso, caracterizar físico e quimicamente (densidade relativa, viscosidade cinemática a 40 e 100 °C, número de acidez total, ponto de fluidez e teor de cinzas) os óleos lubrificantes novo, usado e recuperados.

MATERIAL E MÉTODOS

Óleo lubrificante

O Lubrificante mineral para motor a diesel

(SAE 15W40) (LUB0), foi adicionado ao veículo ano 2010, modelo S10. Após percorrer 10 mil Km em trecho misto, a troca do óleo foi realizada numa oficina mecânica, onde o óleo foi retirado, com o motor ainda quente, para facilitar o escoamento e realizada a coleta e armazenamento do lubrificante em recipientes devidamente limpos e isentos de impurezas.

Solventes orgânicos

Foram utilizados para o processo de extração de óleo base os solventes propano-2-ol (IPP), butan-2-ona (MEC) e o butan-1-ol (BUT), todos com grau PA da VETEC.

Pré-tratamento da amostra do óleo lubrificante usado

O pré-tratamento foi realizado por um processo de destilação a vácuo do óleo lubrificante (LUB10) para eliminação de água e hidrocarbonetos leves. O processo foi realizado no destilador a vácuo automático, equipamento da B/R Instrument, modelo D1160, com nível de vácuo e taxa de destilação controlados e programados através de PC. As condições foram: pressão de 5 mmHg e temperatura de 220 °C.

Delineamento Experimental Fatorial

Para avaliar o efeito dos diferentes solventes polares, propano-2-ol (IPP), butan-2-ona (MEC) e o butan-1-ol (BUT), no processo de rerrefino do LUB10, foi utilizado um delineamento fatorial completo 2² com as variáveis independentes proporção lubrificante:solvente (X₁, p/p), temperatura de extração (X₂, °C), tendo como respostas: rendimento de extração (RD, %), teor de cinzas (CZ, %) e número de acidez total (TAN, mg KOH/g). Os níveis codificados e não codificados das variáveis independentes estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1

Níveis codificados e não codificados das variáveis independentes.

Variáveis independentes	Níveis das variáveis codificadas				
	-α	-1	0	+1	+α
Proporção (X ₁)	1:1	1:1,9	1:4	1:6,1	1:7
Temperatura (X ₂)	20	25	40	54	60

Todos os dados experimentais foram realizados por meio de três repetições e serão testados em um modelo estatístico que melhor se adequa, utilizando a falta de ajuste da ANOVA afim de avaliar a necessidade da inclusão de termos ao modelo. O procedimento de regressão das superfícies de respostas foi realizado utilizando o software statistic7. A equação geral (Eq. 1) utilizada para descrever os modelos é:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_1 X_1^2 + \beta_2 X_2 + \beta_2 X_2^2 + \beta_1 \beta_2 X_1 X_2 \quad (1)$$

Em que: β_0 , β_1 e β_2 são coeficientes de regressão e X_1 e X_2 são os valores codificados das variáveis independentes, pressão e temperatura respectivamente.

Obtenção do óleo lubrificante recuperado por extração do solvente polar (LUBR)

Em um elermeyer de 250 ml, colocou-se o LUB10 e o solvente nas proporções e temperatura do planejamento para cada solvente, em seguida fez-se a homogeneização da mistura em um agitador mecânico (ET-420 Incubadora), nas condições: agitação 200 RPM, tempo de agitação 30 minutos e temperatura do planejamento. O próximo passo foi a separação das fases, para tal utilizou-se uma centrífuga (HITACHI, himac CF 5RX), nas condições: 5000 RPM, tempo de 20 minutos e desaceleração superlenta, ao final observou-se nitidamente duas fases, a superior sendo solvente com óleo base e a inferior a borra (resíduo). Em seguida, transferiu-se a fase superior para o balão do destilador a vácuo para recuperação do solvente e obtenção do óleo lubrificante recuperado por

método de extração de solventes (LUBR), nas seguintes condições: temperatura 50 °C e pressão inicialmente de 100 mmHg e reduzida gradativamente até 5 mmHg. A fase inferior, borra, foi armazenado para tratamento e descarte.

Caracterização físico química

A American Society for Testing and Materials - ASTM, sugere métodos de ensaio para a caracterização de óleos de base lubrificantes de hidrocarbonetos derivados de vários processos de refinação, incluindo a rerrefinação de óleos usados, através de um guia descrito pela norma ASTM D6074(2015). As amostras do lubrificante: novo (LUB0), usado (LUB10) e recuperado (LUBR para cada solvente) foram caracterizadas físico quimicamente em termos de viscosidade cinemática a 40 e 100 °C ASTM D445(2014), ponto de fluidez ASTM D97(2016), densidade relativa a 20 °C ASTM D4052 (2015), número total de acidez ASTM D664 (2011) e teor de cinzas ASTM D482 (2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Planejamento experimental - Análise dos modelos

Avaliou-se, a partir do delineamento experimental, os efeitos da proporção (X_1) e temperatura (X_2) de extração dos contaminantes para obtenção do óleo base rerrefinado. Utilizou-se três solventes, IPP, MEC e BUT, com objetivo de avaliar o comportamento sobre as respostas estudadas: número total de ácido (TAN), teor de cinzas (CZ) e rendimento da extração (RD). O planejamento foi individualizado para cada solvente, ou seja, foram aplicados três planejamentos experimentais. Os resultados dos ensaios estão dispostos na Tabela 2.

De acordo com a Tabela 2, para o solvente IPP, os resultados para a resposta RD variaram de

14,38 – 78,65%, TAN 2,04 – 5,47 mgKOH/g e CZ 0,03 – 0,33%. Para o solvente MEC as variações foram: RD 70,60 – 89,10 %, TAN 0,98 – 5,20 mgKOH/g e CZ 0,27 – 1,16%. Para o solvente BUT as variações foram: RD 70,95 – 86,48%, TAN 1,26 – 5,27 mg KOH/g e CZ 0,55 – 0,97%.

Tabela 2

Rendimento de extração (RD), número total de acidez (TAN) e teor de cinzas (CZ), obtidos do delineamento experimental para os solventes propano-2-ol (IPP), butan-2-ona (MEC) e butan-1-ol (BUT).

Ensaio	Variáveis independentes		Variáveis dependentes								
	X_1	X_2	IPP			MEC			BUT		
			RD	TAN	CZ	RD	TAN	CZ	RD	TAN	CZ
1	1,87	25	29,93	5,47	0,33	86,50	3,02	0,66	82,91	3,26	0,72
2	1,87	54	28,16	2,54	0,08	87,12	5,20	0,84	76,54	4,75	0,74
3	6,13	25	70,78	3,67	0,15	89,11	2,99	0,31	78,97	1,26	0,54
4	6,13	54	77,81	4,34	0,15	88,22	4,64	0,51	81,28	4,99	0,67
5	4	20	57,26	3,89	0,10	84,16	0,98	0,19	82,22	2,97	0,55
6	4	20	62,02	4,09	0,03	83,28	1,10	0,26	70,95	2,59	0,72
7	1	60	14,38	5,90	0,09	70,63	5,88	1,16	69,09	5,27	0,97
8	7	40	78,65	2,04	0,07	86,32	4,57	0,37	79,12	1,35	0,56
9	4	40	59,74	3,06	0,15	87,13	2,01	0,27	82,58	3,94	0,67
10	4	40	60,52	3,01	0,13	86,31	2,11	0,28	85,41	3,88	0,69
11	4	40	60,01	3,21	0,13	85,90	2,15	0,27	86,48	3,92	0,68

Os modelos lineares e quadráticos foram testados pela significância ($p > 0,05$) da falta de ajuste e do coeficiente de determinação (R^2) obtidos através da análise de variância (ANOVA) e regressão linear (Tabela 3) (BELWAL et al., 2016; SONIAVIEIRA, 2006).

Para o solvente IPP, os modelos foram significativos ($p < 0,05$) na forma quadrática para a resposta RD e linear para as respostas TAN e CZ. De acordo com a Tabela 3, o valor não

significativo ($p > 0,05$) para a falta de ajuste ($F = 1,390$) mostrou que o modelo é adequado para previsão do RD com coeficiente de determinação satisfatório ($R^2 = 0,999$). Já a falta de ajuste das respostas TAN ($F = 883,660$) e CZ ($F = 20,876$) foi significativo ($p < 0,05$), logo os modelos não são adequados para previsões de tais respostas. As equações polinomiais (Eq. 2, Eq. 3, Eq. 4) que descrevem os modelos são:

$$RD_{IPP} = -3,633 + 20,71X_1 - 1,597X_1^2 - 0,005X_2 - 0,003X_2^2 + 0,087X_1X_2 \quad (2)$$

$$TAN_{IPP} = 11,728 - 1,122X_1 - 0,171X_2 + 0,019X_1X_2 \quad (3)$$

$$CZ_{IPP} = 0,699 - 0,091X_1 - 0,012X_2 + 0,002X_1X_2 \quad (4)$$

Tabela 3

Coefficiente de regressão (β), o coeficiente de determinação (R^2) e valor F - teste dos modelos polinomiais de segunda ordem e predição para as respostas rendimento de extração (RD), número de acidez total (TAN) e teor de cinzas (CZ).

Coeficientes de regressão	Respostas		
	RD	TAN	CZ
IPP			
Média/Interceptor			
β_0	-3,633*	11,728*	0,699*
Linear			
β_1	20,071*	-1,122*	0,091*
β_2	-0,005	-0,171*	0,012*
Quadrático			
β_1^2	-1,597*	-	-
β_2^2	-0,003	-	-
Interações			
X_1X_2	0,087*	0,019*	0,002*
R^2	0,999	0,949	0,928
F valor (<i>Falta de ajuste</i>)	1,390	883,660*	20,876*
MEC			
Média/Interceptor			
β_0	83,888*	4,588*	1,442*
Linear			
β_1	0,934	-3,168*	-0,578*
β_2	0,044	0,171*	0,006*
Quadrático			
β_1^2	-	0,399*	0,059*
β_2^2	-	-0,001*	-0,00003
Interações			
$\beta_1\beta_2$	-0,013	-0,004*	0,00002
R^2	0,691	0,888	0,950
F valor (<i>Falta de ajuste</i>)	7,266	409,067*	455,820*

Para o solvente MEC, os modelos foram significativos ($p < 0,05$) na forma quadrática para as respostas TAN e CZ, e linear para a resposta RD. De acordo com a Tabela 3, o valor não significativo ($p > 0,05$) para a falta de ajuste ($F = 7,266$) mostrou que o modelo é adequado para previsão do RD com coeficiente de determinação mediano ($R^2 = 0,691$). Já a falta de ajuste das respostas TAN ($F = 409,067$) e CZ ($F = 455,820$) foi significativa ($p < 0,05$), logo os modelos não são adequados para previsões de tais respostas. As equações polinomiais (Eq. 5, Eq. 6, Eq. 7) que descrevem os modelos são:

$$RD_{MEC} = 83,888 + 0,934X_1 + 0,04X_2 - 0,013X_1X_2 \quad (5)$$

$$TAN_{MEC} = 4,588 - 3,168X_1 + 0,399X_1^2 + 0,171X_2 - 0,001X_2^2 - 0,004X_1X_2 \quad (6)$$

$$CZ_{MEC} = 1,442 - 0,578X_1 + 0,059X_1^2 + 0,006X_2 - 0,00003X_2^2 + 0,00002X_1X_2 \quad (7)$$

Para o solvente BUT, os modelos foram significativos ($p < 0,05$) na forma quadrática para a resposta RD e linear para as respostas TAN e CZ. De acordo com a Tabela 3, o valor não significativo ($p > 0,05$) para a falta de ajuste das respostas RD ($F = 3,834$), CZ ($F = 2,594$) mostrou que os modelos são adequados para suas previsões com coeficientes de determinação satisfatórios ($R^2 = 0,824$, $R^2 = 0,971$), respectivamente. Já a falta de ajuste da resposta TAN ($F = 124,351$) foi significativa ($p < 0,05$), logo o modelo não é adequado para previsão de tal resposta. As equações polinomiais (Eq. 8, Eq. 9, Eq. 10) que descrevem os modelos são:

$$RD_{BUT} = 68,795 + 0,869X_1 - 0,450X_1^2 + 0,863X_2 - 0,016X_2^2 + 0,070X_1X_2 \quad (8)$$

$$TAN_{BUT} = 3,819 - 0,924X_1 + 0,018X_2 + 0,018X_1X_2 \quad (9)$$

$$CZ_{BUT} = 0,8444 - 0,068X_1 - 0,001X_2 + 0,0009X_1X_2 \quad (10)$$

Mesmo que alguns modelos não sejam preditivos, é possível obter uma otimização analisando as curvas de contorno de cada solvente (Figura 1) para as respostas (RD, TAN, CZ).

Influência dos solventes (IPP, MEC, BUT) e parâmetros de extração na recuperação do LUB10

Nesse estudo, foi avaliado o desempenho dos

solventes orgânicos (IPP, MEC, BUT) de acordo com os parâmetros de proporção (lubrificante:solvente) e temperatura de extração com base na capacidade de extrair óleo base e eliminar as impurezas provenientes do processo de degradação e aditivos

remanescentes do lubrificante usado (LUB10). O delineamento experimental mostrou possíveis rotas de extrações, otimizando o processo em geral, as variáveis de respostas (RD, TAN, CZ) mostraram-se de grande importância para tal avaliação.

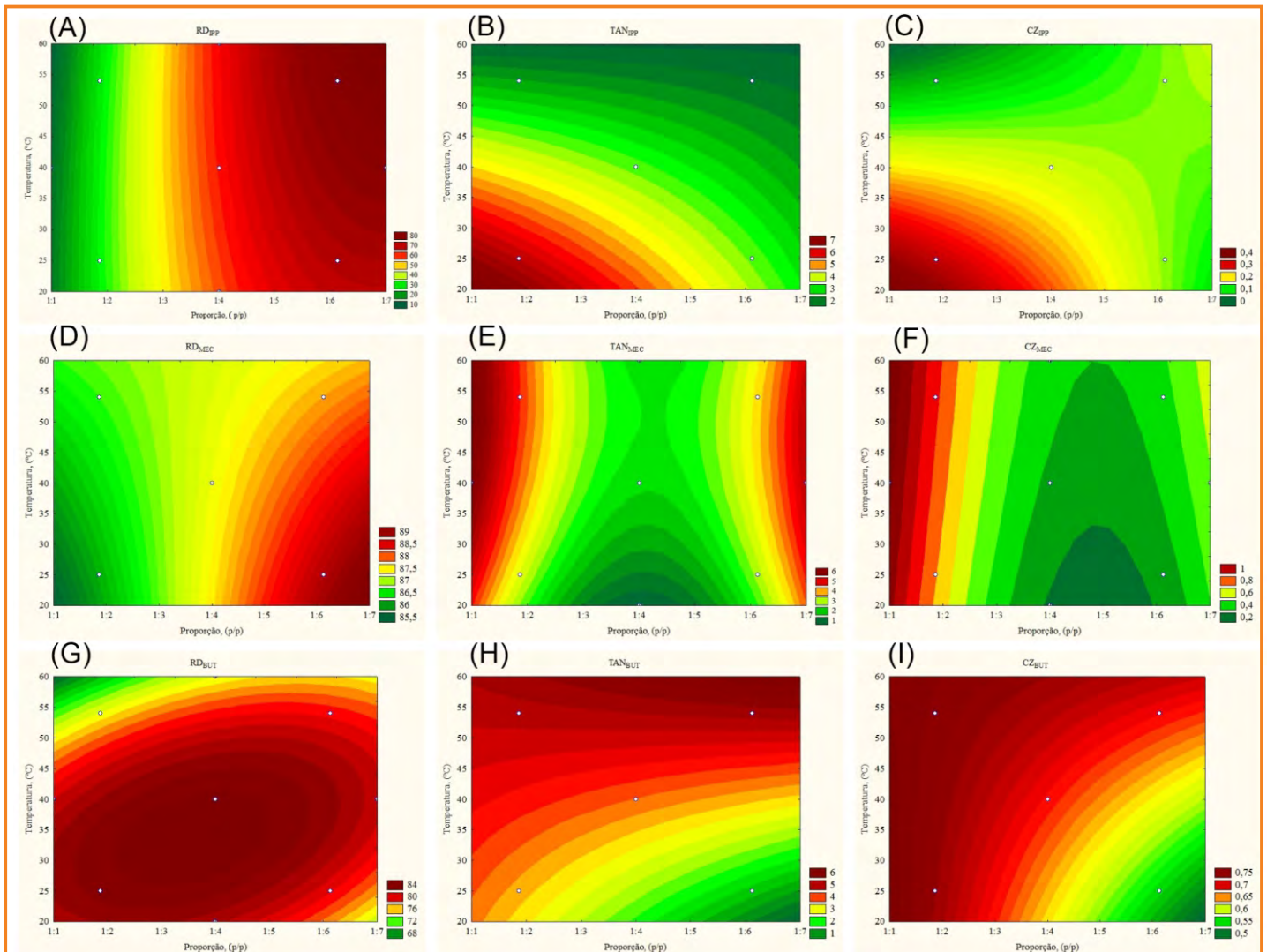


Figura 1 - Curvas de contorno para as respostas: rendimento de extração (RD), número de acidez total (TAN) e teor de cinzas (CZ), obtidas para cada solvente: IPP, MEC e BUT.

Pelas curvas de contorno (Figura 1A, Figura 1B e Figura 1C), para o solvente IPP, observa-se que para a resposta RD (Figura 1A) a temperatura não teve influência, onde o maior rendimento foi observado para proporções mais elevadas (1:6 a 1:7). O mesmo comportamento foi observado para TAN (Figura 1B) e CZ (Figura 1C), onde os menores valores foram obtidos entre a proporção 1:6 a 1:7 com temperatura de 30 °C.

Para o solvente MEC, a proporção também teve maior influência nas respostas RD (Figura 1D), TAN

(Figura 1E) e CZ (Figura 1F), sendo observado melhores resultados nas proporções 1:4,7-1:7, 1:2-1:7 e 1:2,5-1:6, respectivamente, a uma temperatura de 30 °C.

Já para o solvente BUT, observou-se que temperaturas elevadas, na faixa de 40 a 60 °C, obtiveram melhores resultados para RD (Figura 1G), com proporção variando de 1:1 a 1:3. Por outro lado, TAN e CZ (Figura 1H e Figura 1I) apresentaram melhores resultados em proporções acima de 1:6 e temperatura de 30 °C.

A recuperação de óleo lubrificante usado por extração de solventes é um processo simples que deve assegurar completa miscibilidade de óleo base no solvente e promover a rejeição de matérias carbonáceas e aditivos por sedimentação, estes últimos totalizam cerca de 10-14%. Outro fato importante é assegurar a recuperação máxima do solvente envolvido no processo. (HAMAD; AL-ZUBAIDY; FAYED., 2005; RINCON; CANIZARES; GARCIA, 2005). Segundo REIS e JERONIMO (1988), cetonas e álcoois com três ou mais átomos de carbono, satisfazem a propriedade de extração-floculação, sendo miscíveis ao óleo base a temperatura ambiente.

Os resultados encontrados nesse estudo seguem a mesma tendência dos descritos por (AL-ZAHRANI; PUTRA, 2013; DURRANI; PANHWAR; KAZI, 2012; ELBASHIR et al., 2002; EMAM; SHOIB, 2013) onde foi observado que a as perdas de óleo base diminuem com o aumento da temperatura de extração e com o aumento da razão de solvente, onde o MEC obteve menores perdas seguido por IPP e BUT, a temperatura de 30 °C. RINCON; CANIZARES; GARCIA (2005) observou que a proporção está relacionada com os níveis de saturação entre o solvente e o óleo, onde em proporções menores, os solventes saturam e não

fazem dissolver todo o óleo presente. ELBASHIR (2002) sugere que essas tendências podem ser explicadas pelo fato de que, quando um solvente possui diferença mínima de solubilidade de um óleo, logo terá uma maior miscibilidade neste, diminuindo assim as perdas e maximizando o rendimento de extração.

Após o processo de extração do óleo base recuperado para cada solvente (LUBR_{IPP}, LUBR_{MEC}, LUBR_{BUT}) e os lubrificantes novo (LUB0) e usado (LUB10), seguiu-se para as caracterizações físico química. Os solventes foram recuperados por destilação a vácuo, com pressão e temperatura controladas, obtendo em média 95% de recuperação.

Caracterização físico química

A densidade é uma propriedade física fundamental que pode ser utilizado em conjunto com outras propriedades para caracterizar o óleo lubrificante (ASTM D4052, 2015). Observando a Tabela 4, verifica-se que a densidade do LUB10 foi maior quando comparada ao LUB0. Após a recuperação houve uma redução deste parâmetro, indicando uma possível eliminação de contaminantes. A amostra LUB_{IPP} obteve melhor resultado.

Tabela 4
Caracterização físico química dos lubrificantes: novo, usado e recuperados

Ensaio	Amostras				
	LUB0	LUB10	LUBR _{IPP}	LUBR _{MEC}	LUBR _{BUT}
Densidade a 20 °C, (g/cm ³)	0,881	0,890	0,873	0,876	0,879
Viscosidade cinemática a 40 °C, (mm ² /s ²)	114	124	33,64	37,14	41,27
Viscosidade cinemática a 100 °C, (mm ² /s ²)	15,84	17,86	6,31	6,80	7,30
Número total de acidez, (mg KOH/g)	2,01	5,74	0,48	0,83	0,91
Fluidez, (°C)	-28	-24	-8	-7	-8
Cinzas, (peso, %)	0,09	1,13	0,07	0,19	0,53
Rendimento da extração, (%)	--	--	78	84	80

A viscosidade cinemática é uma propriedade importante em óleos lubrificantes, qualquer alteração é indesejável em um motor, pois afeta a eficácia de lubrificação. O seu aumento ocorre principalmente pela formação de produtos resinosos por causa da oxidação do óleo, evaporação de frações mais leves, esgotamento de aditivos antidesgaste e contaminação por compostos insolúveis (HASANNUDDIN et al., 2016). De acordo com a Tabela 4, pode-se observar que ocorreu um aumento na viscosidade cinemática a 40 e 100 °C do LUB10 em relação ao LUB0, onde após a recuperação do LUB10 foi verificado uma redução para as amostras recuperadas. O LUBR_{IPP} obteve melhor resultado para este parâmetro.

O ponto de fluidez é importante para o funcionamento de motores em ambientes de baixa temperatura fazendo-se necessário a adição de aditivos na formulação do óleo lubrificante (AL-GHOUTI; AL-ATOUM, 2009). Pela Tabela 4, observa-se uma pequena redução do LUB0 para o LUB10 mostrando que mesmo após uso prolongado, tal propriedade sofreu poucas alterações. Após o processo de extração verificou-se que as amostras recuperadas tiveram o ponto de fluidez reduzido, mostrando assim a eficiência do processo na remoção de aditivos. A amostra LUB_{MEC} foi a que apresentou melhor resultado.

Lubrificantes automotivos, novos ou usados, podem conter componentes ácidos, presentes como aditivos (detergentes, inibidores), produtos de degradação formados durante o serviço (por exemplo, produtos de oxidação) e sais de metais pesados. Valores altos do índice de acidez de óleos básicos indicam que produtos de oxidação podem estar presentes, os quais devem ser neutralizados ou removidos no processo de rerrefino (ASTM D664, 2011). Os valores de TAN do LUB10 (Tabela 4) aumentou de forma considerável quando comparado ao LUB0, indicando que a amostra sofreu severa degradação química durante sua utilização. Após o processo de extração, as

amostras recuperadas obtiveram valores inferiores ao LUB0, onde a amostra LUBR_{IPP} obteve melhor resultado.

A quantidade de materiais formadores de cinzas presentes em um produto pode fornecer informações sobre sua adequação, ou não, para uma dada aplicação. As cinzas podem provir do óleo, de compostos metálicos solúveis em água ou de sólidos estranhos, tais como impurezas ou ferrugem (ASTM D482, 2013). De acordo com a Tabela 4, o teor de cinzas das amostras recuperadas foi reduzido com eficiência, a amostra LUBR_{IPP} mostrou-se com o melhor resultado.

O rendimento das extrações para cada solvente se encontram na Tabela 4, de uma forma geral apresentaram excelentes resultados e quando se utilizou o solvente MEC obteve-se maior rendimento (84%).

Os resultados encontrados nesse estudo estão de acordo com pesquisas realizadas sobre recuperação de lubrificante usado, mostrando a eficiência da extração com solventes polares (ALMEIDA, 2011; HAMAD; AL-ZUBAIDY; FAYED., 2005; KAMAL; KHAN, 2009; MOHAMMED et al., 2013; RINCÓN; CAÑIZARES; GARCÍA, 2007).

CONCLUSÕES

A recuperação de óleos lubrificantes usados vêm ganhando cada vez mais espaço no contexto da conservação ambiental. Com a utilização de um planejamento experimental, foi possível sugerir uma otimização do processo, onde as melhores proporções de extração são 1:6; 1:4,7 e 1:6 para os solventes IPP, MEC e BUT respectivamente. Além do mais, permitiu a otimização da temperatura de extração em 30 °C, possibilitando uma possível redução de custos no processo, uma vez que esta pode ser considerada temperatura ambiente em diversas regiões do país.

As caracterizações físico químicas estudadas se mostram de suma importância para o controle de

qualidade de óleos lubrificantes recuperados, através destas foi possível verificar a redução das impurezas e aditivos, mostrando assim a eficiência do processo de extração por solventes polares.

AGRADECIMENTOS

LACOM, UFPB, CAPES.

REFERÊNCIAS

AL-GHOUTI, M. A.; AL-ATOUM, L. Virgin and recycled engine oil differentiation: A spectroscopic study. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 1, p. 187–195, 2009.

ALMEIDA, R. A. DE. **Estudo da recuperação de óleos lubrificantes minerais usados utilizando solventes polares**. 2011. 83 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2011.

AL-ZAHRANI, S. M.; PUTRA, M. D. Journal of Industrial and Engineering Chemistry Used lubricating oil regeneration by various solvent extraction techniques. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 19, n. 2, p. 536–539, 2013.

ARAÚJO, M. D. S. et al. Aplicação da metodologia da superfície de resposta para otimização da fermentação alcoólica do soro de queijo. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, p. 190–197, 2014.

ASTM D4052. Standard Test Method for Density, Relative Density, and API Gravity of Liquids by Digital Density Meter 1. **ASTM International**, p. 1–8, 2015.

ASTM D445. Standard Test Method for Kinematic viscosity of transparent and Opaque Liquids. **ASTM International**, v. 04, n. 89, p. 3–8, 2014.

ASTM D482. Standard Test Method for Ash from Petroleum Products. **ASTM International**, p. 8–11, 2013.

ASTM D6074. Standard Guide for Characterizing

Hydrocarbon Lubricant Base Oils 1. **ASTM International**, p. 1–11, 2015.

ASTM D664. Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric. **Annual Book of ASTM Standards**, v. 05, n. December, p. 1–7, 2011.

ASTM D97-16. Standard Test Method for Pour Point of Petroleum Products. **ASTM International**, v. 2, p. 1–5, 2016.

BELWAL, T. et al. Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in Berberis asiatica fruits using response surface methodology (RSM). **Food Chemistry**, v. 207, p. 115–124, 2016.

DURRANI, H. A. L. I.; PANHWAR, M. I.; KAZI, R. A. Determining an Efficient Solvent Extraction Parameters for Re-Refining of Waste Lubricating Oils. **Mehran University Research Journal of Engineering & Technology**, v. 31, n. 2, p. 265–270, 2012.

ELBASHIR, N. O. et al. A method of predicting effective solvent extraction parameters for recycling of used lubricating oils. **Chemical Engineering Processing**, v. 41, p. 765–769, 2002.

EMAM, E. A.; SHOAI, A. M. Re-refining of used lube oil, i- by solvent extraction and vacuum distillation followed by hydrotreating. **Petroleum and Coal**, v. 55, n. 3, p. 179–187, 2013.

HAMAD, A.; AL-ZUBAIDY, E.; FAYED., M. E. Used lubricating oil recycle using hydrocarbon solvents. **Journal of Environmental Management**, v. 74, p. 153–159, 2005.

HASANNUDDIN, A. K. et al. Performance, emissions and lubricant oil analysis of diesel engine running on emulsion fuel. **Energy Conversion and Management**, v. 117, p. 548–557, 2016.

JAFARI, A. J.; HASSANPOUR, M. Analysis and comparison of used lubricants, regenerative technologies in the world. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 103, p. 179–191, 2015.

- KAMAL, A.; KHAN, F. Effect of Extraction and Adsorption on Re-refining of Used Lubricating Oil. **Oil & Gas Science and Technology - Revue de l'IFP**, v. 64, n. 2, p. 191–197, 2009.
- MOHAMMED, R. R. et al. Waste lubricating oil treatment by extraction and adsorption. **Chemical Engineering Journal**, v. 220, p. 343–351, 2013.
- PARK, S. W. et al. Electrokinetic remediation of contaminated soil with waste-lubricant oils and zinc. **Journal of Hazardous Materials**, v. 169, n. 1-3, p. 1168–1172, 2009.
- REIS, M. A.; JERNIMO, M. S. Waste Lubricating Oil Rerefining by Extraction-Flocculation . 1 . A Scientific Basis To Design Efficient Solvents. **Industrial & Engineering Research**, n. 1974, p. 1222–1228, 1988.
- RINCON, J.; CANIZARES, P.; GARCIA, M. T. Regeneration of used lubricant oil by ethane extraction. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 39, p. 315–322, 2005.
- RINCÓN, J.; CAÑIZARES, P.; GARCÍA, M. T. Regeneration of used lubricant oil by ethane extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 39, n. 3, p. 315–322, 2007.
- SILVA, M. A. DA et al. Avaliação do gerenciamento de resíduos de óleos lubrificantes e suas embalagens em oficinas mecânicas da cidade de Pombal – PB , Brasil Evaluation of the waste management of lubricating oils and their packaging in car repair stations of. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, p. 53–58, 2014.
- SILVEIRA, E. L. C. et al. Determinação de metais em óleos lubrificantes, provenientes de motores de ônibus urbano, utilizando a faas. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1863–1867, 2010.
- SONIA VIEIRA. **Análise de variância (ANOVA)**. 1. ed. São Paulo: Atlas, 2006.
- USMAN, M. A.; KAYODE-SOTE, O. G. Reclamation of used lubricating oils. **Petroleum and Coal**, v. 53, n. 2, p. 159–166, 2011.
- YANG, C. et al. Characterization and differentiation of chemical fingerprints of virgin and used lubricating oils for identification of contamination or adulteration sources. **Fuel**, v. 163, p. 271–281, 2016.

Bioprospecção em algumas espécies de microalgas do Nordeste do Brasil em relação ao seu uso potencial para produção de biodiesel

Bioprospecting in some species of microalgae from the Northeast of Brazil in regarding to its potential use for biodiesel production

Clediana Dantas Calixto^{1*}, Rene Pinto da Silva¹, Everton Vieira da Silva¹,
Marco Aurélio Rodrigues de Melo², Nelson Roberto Antoniosi Filho³,
Cristiane Francisca da Costa Sassi⁴, Marta Maria da Conceição⁵, Roberto Sassi⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Química – CCEN – Universidade Federal da Paraíba.

²Faculdade Internacional da Paraíba – FPB, João Pessoa -PB.

³Instituto de Química - Universidade Federal de Goiás, Goiânia - GO

⁴Departamento de Sistemática e Ecologia. – CCEN – Universidade Federal da Paraíba.

⁵Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional – Universidade Federal da Paraíba.

*clediana_dantas@hotmail.com

Submetido em 24/07/2016; Versão revisada em 25/09/2016; Aceito em 26/09/2016

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes espécies de microalgas isoladas de ambientes marinhos e de água doce da região nordeste do Brasil, em relação à sua capacidade de produção de biomassa e de acumulação de ésteres. A pesquisa também teve a intenção de caracterizar as mudanças no perfil de ácidos graxos de cada espécie e sua influência sobre as propriedades do biodiesel produzido. O desenvolvimento das culturas foi acompanhado por contagem celular e por fluorescência “in vivo” e a composição de ácidos graxos da biomassa foi determinada por CG-MS. Os resultados mostraram um uso potencial para a produção de biodiesel em *Pediastrum tetras*, *Scenedesmus acuminatus*, *Chlamydomonas* sp., *Lagerheimia longiseta*, *Amphora* sp., *Monoraphidium contortum*, *Chlorella* sp. e *Cosmarium* sp. Estas espécies mostraram elevada produtividade em biomassa (0,28 a 0,95 g L⁻¹ d⁻¹) e conteúdos de ésteres mais elevados do que a soja (de 229,6 a 584,9 mg g⁻¹).

Palavras-chave: Biocombustíveis, microrganismos fotossintetizantes, perfil de FAME.

Abstract

This work aimed to evaluate different species of microalgae isolated from marine and freshwater environments from the Northeast of Brazil in regarding to its capacity of biomass production and accumulation of esters. The research also has the intention of characterize the changes in the fatty acid profile of each species and its influence on the properties of the produced biodiesel. The development of the cultures was accompanied by cell counts and by "in vivo" fluorescence analyses and the fatty acid composition of biomass were determined by GC-MS. The results showed a potential use for biodiesel production in *Pediastrum tetras*, *Scenedesmus acuminatus*, *Chlamydomonas* sp., *Lagerheimia longiseta*, *Amphora* sp., *Monoraphidium contortum*, *Chlorella* sp. and *Cosmarium* sp. These species showed high biomass productivity (0.28 – 0.95 g L⁻¹ d⁻¹) and contents of the ester higher than the soybean (229.6- 584.9 mg g⁻¹).

Key words: Biofuels, photosynthetic microorganisms, FAME profile.

INTRODUÇÃO

O potencial e a perspectiva de desenvolvimento sustentável de fontes de energias renováveis têm recebido grande atenção nos últimos anos visando garantir combustível no futuro (SINGH, NIGAM e MURPHY, 2011). Os biocombustíveis representam uma alternativa energética promissora por serem renováveis e biodegradáveis, e emitirem menores quantidades de CO₂ para a atmosfera (CHISTI, 2007).

Quando derivados de microalgas, os biocombustíveis apresentam-se como líder no campo das pesquisas mundiais, uma vez que geram benefícios aos seres humanos e, principalmente, ao meio ambiente.

Uma vez processadas através de reações químicas ou biológicas, a biomassa das microalgas pode fornecer diferentes tipos de biocombustíveis: biodiesel, biohidrogênio, bioetanol, bioquerosene e biometano (DEMIRBAS, 2011). Todavia, atualmente o foco tem se concentrado na produção de biodiesel. O biohidrogênio também tem se popularizado com o seu potencial em aplicações modernas, como as células de combustível, enquanto o bioetanol e o biometano são considerados como parte de processos integrados (ONCEL, 2013).

Muitas vantagens justificam o uso das microalgas como promissoras na produção de biodiesel: a sua produção lipídica pode chegar até 70% da biomassa seca, dependendo da espécie e estado fisiológico em que esta se encontra (PRAGYA, PANDEY e SAHOO, 2013); a produtividade em lipídios por área cultivada é elevada quando comparadas com culturas oleaginosas; produzem co-produtos de alto valor agregado; para cultivo podem ser usadas fontes de nutrientes, tais como nitrogênio e fósforo, de uma variedade de águas residuais, bem como podem ser cultivadas em locais inóspitos, cujo solo não é favorável à prática agrícola convencional, através da implantação de fotobiorreatores, que possibilitam

ciclos contínuos de produção durante todo o ano (HU et al., 2008; SCOTT et al., 2010; WIJFFELS e BARBOSA, 2010). Entretanto, o biodiesel de microalgas ainda não é rentável a ponto de competir com o diesel fóssil, o que tem despertado uma gama de investigações para transformá-lo em um produto economicamente viável (BEHZADI e FARID, 2007; DEMIRBAS e DEMIRBAS, 2011).

A seleção de espécies de alto potencial biotecnológico é um aspecto importante a ser considerado, uma vez que pode levar à redução de custos no processo produtivo. Para ser competitiva como fonte de matéria-prima para produção de biocombustível, a espécie utilizada deve apresentar elevada eficiência fotossintética e produtividade lipídica acentuada, além de ter composição química adequada que proporcione um combustível de qualidade (JI et al., 2013). Tais fatores convergem para a necessidade da bioprospecção de espécies de microalgas, principalmente as regionais, já que a grande maioria destas ainda permanece química e metabolicamente inexplorada (SHEEHAN et al., 1998). O presente estudo teve o propósito de avaliar cepas de microalgas isoladas da região Nordeste do Brasil quanto ao seu potencial para produção de biodiesel, levando em consideração suas taxas de crescimento celular e sua composição de ésteres metílicos de ácidos graxos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e isolamento das cepas de microalgas

Amostras de água de diferentes ambientes lacustres dos estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará e Bahia foram coletadas em frascos de vidro e garrafas PET e transportadas em condições herméticas ao Laboratório de Ambientes Recifais e Biotecnologia com Microalgas (LARBIM/UFPB), onde alíquotas das amostras foram transferidas para balões de 250 mL contendo os meios de cultura WC (GUILLARD e LORENZEN, 1972),

Zarrouk (ZARROUK, 1966) e Conway (WALNE, 1970) e mantidos numa câmara de cultivo a 25 °C (± 1 °C) dotada de sistema de iluminação, com fotoperíodo de 12 horas.

A partir da observação do crescimento celular procedeu-se o isolamento em microscópio binocular usando micropipetas capilares (LOURENÇO, 2006). Quando constatada a obtenção de culturas unialgais, estas foram codificadas e incorporadas ao Banco de Cultura de Microalgas do LARBIM/UFPB.

A identificação das espécies cultivadas foi feita com base em suas características morfológicas utilizando critérios diacríticos (HINDAK, 1990), a partir de observações efetuadas em microscópio Leica em vários aumentos. Foram utilizadas chaves dicotômicas constantes em manuais tradicionais de ficologia (GEITLER, 1932; KOMARÉK e ANAGNOSTIDIS, 2005) e dados publicados em artigos científicos e em sites específicos. No processo de identificação também foram utilizados manuais tradicionais de ficologia a exemplo dos trabalhos de Bicudo e Menezes (2006); Sant'anna et al. (2006); Bellinger e Sigeo (2010); e Franceschini et al. (2009).

Cultivo e produção de biomassa

As cepas oriundas do banco de cultura foram inoculadas em balões de 6L contendo 5L de meio de cultivo sintético, com densidade celular inicial entre $5 \cdot 10^3$ células mL^{-1} e 10^4 células mL^{-1} . Os experimentos foram desenvolvidos em sala climatizada a 25 °C ± 1 °C com fotoperíodo de 12h e aeração constante fornecida por um minicompressor de membrana RESUNAO2.

Os experimentos foram acompanhados por meio de contagem celular em câmara Sedgewick-Rafter para as células filamentosas e em câmara de Fuchs-Rosenthal para as demais, e por medidas de fluorescência *in vivo* em fluorômetro Turner Design 10005R para a obtenção das curvas de crescimento, sendo interrompidos no início da fase estacionária.

A velocidade de crescimento (k), que representa o número de divisões celulares da população em estudo por unidade de tempo (dia), foi determinada através da equação citada em Fogg e Thake (1987).

A produtividade de biomassa (PB), que se refere à concentração ($\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$) de biomassa microalgal acumulada no cultivo (GRIFFITS e HARRISON, 2009), foi determinada através da relação entre o rendimento de biomassa (RB) e a velocidade de crescimento (k).

Ao término de cada experimento a biomassa microalgal foi concentrada por centrifugação, em centrífuga refrigerada (NT 825) a 18°C, e 3500 r.p.m, congelada em Ultrafreezer (Terroni®) a -30 °C, seca em liofilizador (Terroni® LD1500) e mantida sob refrigeração para posteriores análises.

Análise cromatográfica dos ácidos graxos

A conversão e a análise do perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES: Fatty Acid Methyl Esters) foram obtidos segundo o procedimento de transesterificação direta da biomassa microalgal, adaptado de Menezes et al., (2013). Os ésteres metílicos obtidos nesse processo foram identificados via cromatografia em fase gasosa usando um cromatógrafo a gás Agilent 7890, equipado com detector FID e injetor split/splitless. A coluna capilar utilizada foi a DB-WAX (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm); o forno operou sob temperatura inicial de 70 °C, aquecido a 10 °C min^{-1} até 240 °C, e mantido por 13 minutos, sendo reaquecido a 5 °C min^{-1} até 250 °C; o injetor foi mantido a temperatura de 310 °C. O volume de injeção foi de 2 μL , no modo split, com razão de 10:1; o hidrogênio 5.0 foi utilizado como gás de arraste, à velocidade linear de 42 cm s^{-1} , e o nitrogênio usado como gás auxiliar a 20 mL min^{-1} (MENEZES et al., 2013). Os FAMES foram identificados pela comparação direta com amostras de oleaginosas de composição conhecida (soja), por injeção de padrões de referência de FAMES (NuCheckPrep®) e por análises via Cromatografia

Gasosa de Alta Resolução acoplada a Espectrometria de Massas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificação das espécies e características do cultivo

Foram isoladas 25 cepas de microalgas de distintos locais dos estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará e Bahia, (Figura 1). Destas, 17 cepas foram identificadas ao nível de espécie e 7 ao nível de gênero.

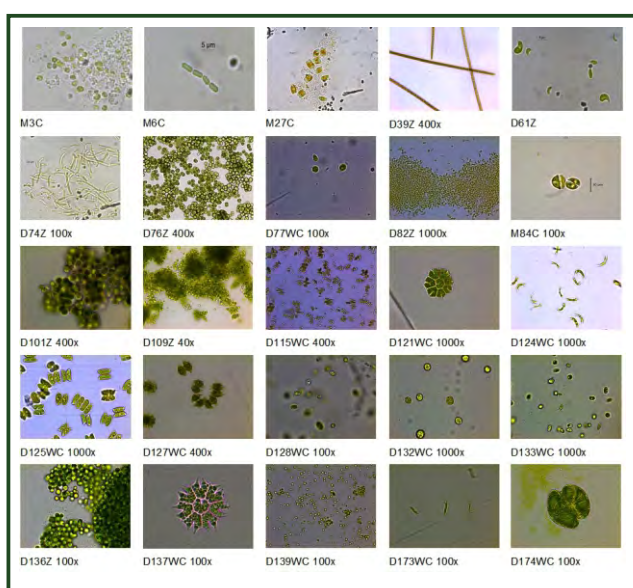


Figura 1 – Microalgas isoladas de ambientes aquáticos do Nordeste brasileiro mantidas em condição de culturas uniaxiais no LARBIM/UFPB. Fonte: Própria do autor.

Clones das espécies *Synechococcus nidulans* (D82Z e D109WC), *Lagerheimia longiseta* (D128WC e D133WC) e *Pediastrum tetras* (D121WC e D137WC) (Tabela 1) foram isoladas de diferentes localidades e uma diversidade de espécies compondo uma mesma região foram constatadas. O que enaltece a necessidade da bioprospecção de microalgas para produção de biocombustíveis e/ou para produção de outros compostos, visto que, cada espécie apresenta propriedades químicas e biológicas peculiares, propiciando uma variedade de aplicações.

Considerando-se os valores médios da

constante de crescimento (k), observa-se que ocorreram diferenças acentuadas entre as espécies, com valores máximos variando entre 0,81 e 1,74 d^{-1} divisões/dia para as cepas D101Z, D109WC, D121WC e D132WC. E valores mínimos de 0,11, 0,12 e 0,14 d^{-1} divisões/dia para as espécies D174WC, D128WC e D136Z, respectivamente.

Quanto ao rendimento da biomassa também foram observadas distinções entre as espécies. Sendo o maior rendimento, entre as espécies marinhas, apresentado pela M3C (*Synechocystis aquatilis*), com valor de 1310 $mg L^{-1}$. E entre as espécies dulcícolas, os maiores valores registrados foram para as cepas D39Z, D74Z, D76Z e D125WC, variando entre 630-994 $mg L^{-1}$. Vale ressaltar que espécies marinhas sempre contêm uma quantidade significativa de sal residual, o que interfere na quantificação final, podendo superestimar esse resultado.

Clones das espécies *Synechococcus nidulans* (D82Z e D109WC), *Lagerheimia longiseta* (D128WC e D133WC) e *Pediastrum tetras* (D121WC e D137WC) mostraram variações nos valores médios do k (de 0,41-1,11 d^{-1} ; 0,12-0,66 d^{-1} ; 0,81-0,64 d^{-1} , respectivamente) e nas quantidades totais de biomassa (de 394-552 $mg L^{-1}$; 270-430 $mg L^{-1}$; 508-166 $mg L^{-1}$, respectivamente). Esses dados são relevantes, visto que tanto as condições do habitat natural, como as condições de cultivo refletem em distintas respostas fisiológicas e metabólicas de cada clone.

Os dados apresentados demonstram viabilidade de algumas espécies para cultivo em larga escala, por estas apresentarem valores de taxas de divisão celular superiores a de espécies que vem sendo aplicadas largamente em produção em massa. A exemplo da *Dunaliella tertiolecta* reportada por Roleda et al., (2013) e da *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* e *Botryococcus braunii* cultivadas por Nascimento et al., (2013), que apresentaram valores respectivos de 0,53 d^{-1} , 0,21 d^{-1} e 0,14 d^{-1} .

Tabela 1

Dados de procedência e parâmetros de crescimento das cepas de microalgas.

Fonte: Própria do autor

Cepa	Identificação	Procedência	k (d ⁻¹)	Rendimento biomassa (mg L ⁻¹)
M3C	<i>Synechocystis aquatilis</i>	Cabo Branco - PB	0,26±0,16	1310
M6C	<i>Romeria gracilis</i>	Cabo Branco - PB	0,36±0,17	528
M27C	<i>Aphanothece</i> sp.	Cabo Branco - PB	0,54±0,02	444
D39Z	<i>Plankthotrix isothrix</i>	Açude de Acauã - PB	0,33±0,12	630
D61Z	<i>Nephrochlamys subsolitaria</i>		0,39±0,07	594
D74Z	<i>Rhabdoderma lineare</i>	Barreiro Sacramento - PB	0,51±0,10	724
D76Z	<i>Chlorococcum cf hypnosporum</i>	Rio Quinturaré - PB	0,30±0,04	640
D77WC	Clorofíceas não identificadas	João Pessoa - PB	0,63±0,21	550
D82Z	<i>Synechococcus nidulans</i>	Açude da Quixaba, Frei Martinho - PB	0,41±0,06	394
M84C	<i>Amphora</i> sp.	Pitimbu - PB	0,48±0,23	668
D101Z	<i>Chlorella</i> sp.	ETE Mangabeira, João Pessoa - PB	1,74±0,31	545
D109WC	<i>Synechococcus nidulans</i>	Nascente Grau	1,11±0,16	552
D115WC	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	Frei Martinho - PB	0,60±0,13	610
D121WC	<i>Pediastrum tetras</i>	Frei Martinho-PB	0,81±0,26	508
D124WC	<i>Monoraphidium contortum</i>	Frei Martinho-PB	0,43±0,17	388
D125WC	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Balneário Pitimbu - PB	0,31±0,09	994
D127WC	<i>Staurastrum rotula</i>	Balneário Pitimbu - PB	0,42±0,13	278
D128WC	<i>Lagerheimia longiseta</i>	Balneário Pitimbu - PB	0,12±0,05	270
D132WC	<i>Chlamydomonas</i> sp.	Cachoeira da Purificação - BA	0,95±0,27	536
D133WC	<i>Lagerheimia longiseta</i>	Açude Malhada Limpa - RN	0,66±0,15	430
D136Z	<i>Chlorococcum</i> sp.	Açude Prainha, Frei Martinho-PB	0,14±0,07	482
D137WC	<i>Pediastrum tetras</i>	Açude São Anastácio - CE	0,64±0,41	166
D139WC	<i>Synechocystis</i> sp	Lago Hotel Village - PE	0,67±0,31	110
D173WC	<i>Monoraphidium contortum</i>	Lagoa Tapada - PB	0,45±0,21	284
D174WC	<i>Cosmarium</i> sp.	Açude Itapororoca - PB	0,11±0,03	364

Produtividade de biomassa e quantificação de ésteres

Os maiores valores de produtividade de biomassa foram obtidos para as espécies D101Z ($0,94 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), D109WC ($0,61 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e D132WC ($0,51 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), Figura 2. Estas cepas não apresentaram as maiores concentrações de biomassa, mas refletem as maiores taxas de divisão celular. Por outro lado, destaca-se a D74Z ($0,37 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e a D125WC ($0,31 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) pelo valor considerável de concentração de biomassa.

Como observado, a taxa de divisão celular e a concentração de biomassa nem sempre se relacionam, sendo necessário calcular a produtividade deste parâmetro para possibilitar a avaliação da produção de lipídeos/ésteres que serão extraídos a fim de convertê-los em biodiesel. Dessa forma, se faz necessário selecionar cepas com alta produtividade, capazes de sintetizar elevados teores lipídicos e que apresentem ainda uma parede celular pouco rígida para facilitar a extração dos biocompostos (LOURENÇO, 2006).

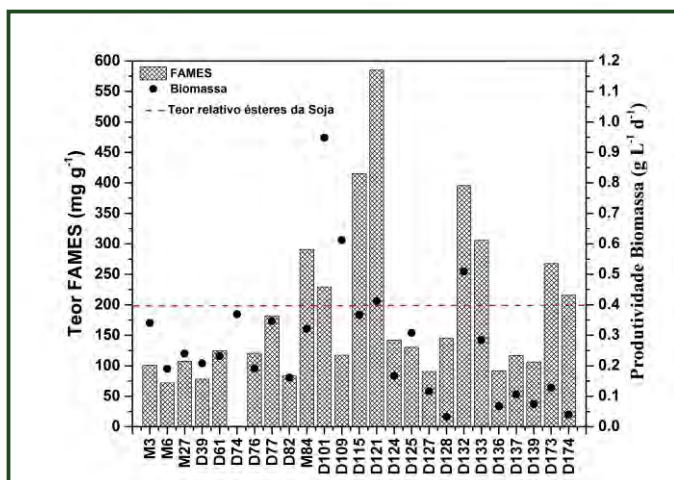


Figura 2 – Rendimento de ésteres e produtividade de biomassa das microalgas isoladas. Fonte: Própria do autor.

Elevados teores de óleos nem sempre correspondem a elevadas conversões em ésteres (YAO et al., 2015). Nessa perspectiva, a análise quantitativa de ésteres de ácidos graxos que compõem cada matriz é outro parâmetro de interesse para seleção de espécies produtoras de biodiesel. Dentre as espécies analisadas, verificou-

se que dezessete apresentaram teor de ésteres inferior à soja, que é a oleaginosa mais participativa na cadeia produtiva de biodiesel no Brasil, Figura 2. E estas espécies apresentaram ainda valores de produtividade de biomassa medianos, o que não as qualifica para propósitos de cultivo em massa.

As espécies M84C, D101Z, D115WC, D121WC, D132WC, D133WC, D173WC e D174WC, em contrapartida, se destacaram pelo teor de éster mais elevado que o quantificado para a soja ($196,9 \text{ mg g}^{-1}$) (MENEZES et al., 2015). Esses valores servem como um importante indicativo, já que é este parâmetro que determinará a quantidade final do biocombustível a ser obtido.

Menezes et al., (2013) avaliaram a potencialidade de seis microalgas dulcícolas para a produção de biodiesel e constataram que destas, apenas uma apresentava teor de éster bastante elevado, cerca de 215% em relação a soja. As demais permearam entre 102% e 129%. Esses achados são inferiores aos valores obtidos em grande parte das espécies destacadas neste estudo.

Quando se faz uma análise comparativa entre o teor de ésteres e a produção de biomassa, constata-se que algumas espécies que apresentam elevados rendimentos em FAMES apresentam baixa produtividade de biomassa ou vice-versa, a exemplo principalmente da D74Z, D109WC, D173WC e D174WC. Este fato faz com que essas microalgas, na prática, não apresentem rentabilidade de ésteres ou biomassa tão elevada quando se avalia apenas o teor total de cada parâmetro, o que pode comprometer o cálculo da produtividade do biodiesel.

Em contrapartida, quando se avalia esse conjunto merecem destaque as espécies M84C, D101Z, D115WC, D121WC, D132WC e D133WC que apresentam teores de ésteres bem superiores à soja e produtividade de biomassa que varia de $0,3$ a $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Tendo em vista tais parâmetros, estas seriam espécies potenciais para produção de

biodiesel de microalgas.

Os dados obtidos mostram relevância quando se faz referência aos reportados por Ahmad et al., (2011), que ao avaliarem 30 espécies de microalgas de diferentes classes, constataram que apenas a *Nannochloropsis* sp. apresentava produtividade de biomassa e quantidade de lipídeos de forma satisfatória, para categorizá-la como boa opção para produção de óleo e biodiesel.

Perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos

As 25 espécies analisadas apresentaram diversificações na composição de ésteres de ácidos graxos, tanto em relação às variações de comprimento das cadeias, geralmente entre quatorze e vinte quatro carbonos, quanto aos teores de insaturações (Tabela 2). Um perfil adequado de ésteres é desejável para que o biodiesel produzido alcance os padrões de qualidade exigidos internacionalmente (NASCIMENTO et al., 2013; PEREIRA et al., 2013; WIJFFELS e BARBOSA, 2010).

Tabela 2

Perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos das vinte e cinco espécies de microalgas.

Fonte: Própria do autor.

FAME (%)	Cepas de Microalgas																								
	M3	M6	M27	D39	D61	D74	D76	D77	D82	M84	D101	D109	D115	D121	D124	D125	D127	D128	D132	D133	D136	D137	D139	D173	D174
C14:0	8	0,2	1,3		1	35,9	2,1	0,8	1,5	9,7	2,6	2,6	0,5	1,8	3,5	1,4	3,3	0,8	1	1,8	1,3	2,6	1,2	0,9	1,6
C16:0	35,8	47,3	30,2	34,5	17,9	10,6	15,4	21,7	40,3	40,1	16,8	23,8	31,5	29,7	29,9	21,2	23,8	43,6	29,1	47,7	34,5	31,5	36,6	20,9	37,3
C16:1	23,1	15,1	36,1	6	2,3	41,4	7,5	0,5	18,6	32,8	7,4	3	1,4	1	2,4	0,3	1,4	0,9	6,2	4,6	1,6	3,6	0,3	0,8	0,4
C16:2			1		2,5		0,4	2,6		0,7	1,4	1,5	1,7	0,3	1,1	0,6	0,7	3,4	1,5	4,1	21,3	0,4	1,8	1,5	0,6
C16:3			2,4		0,7			4,8	0,8	1,4		9,5	1,6	4,2	11,8	10	18,3	2	1,3	1,1		6,1	3,5	14,7	7,6
C17:0	0,3	1,6						5,8	0,3	1,8	3,8	7,6		1,5	0,8	2,9	2,9	0,4				0,9	0,9	2	1,5
C17:1	0,4	3,9				0,7			0,6	0,2	8,7		2,2						5,6	1,6					
C18:0	0,9	0,6	1	1,9	1,2	0,6	0,8	2,3	0,4	0,7	1	0,8	9,8	2,8	0,7	1,3	1,9	0,9	5	3,7	0,6	1,3	3,5	0,3	1,5
C18:1	7	15,1	5	7,7	26,9	2,2	22,5	36	7,5	2,8	23,1	6,8	31,9	33,9	14,8	23,6	10,5	29,5	20,1	20,4	9,6	18,3	33,5	17,3	7,4
C18:2	3,9	9,9	7,7	30,1	10		8,6	13,1	18,7	1,7	11,2	20	10,9	8,2	4,9	16,1	8,1	7,7	6,5	4,5	19,9	6	9,2	10,5	19,8
C18:3	0,2	5,3	1,4	19,8	13,5		28,3	10,9	9,3	0,5	20,6	21,5	7,3	11,7	24,5	19,5	21,4	7,5	12,6	5,9	8,2	13,7	4,8	23,9	15,7
C18:4	0,2	5,3	0,9		5,6		0,4	0,6		0,9	0,2		0,8	1,8	2,6	2,4	3,7		9,5	0,5	0,6	11,3	1	5,2	2,5
C20:4	2,9						0,5			0,8	0,3										0,6				
C20:5	14,4												0,6									0,9		0,5	2,8
C21:0			11,2		0,5																				
C24:0					4,7																				
SFA	47,8	50,3	43,7	36,4	26,5	48	18,3	31,2	43,5	54,5	25,5	37,1	42	37,7	36,7	27,5	34,3	47,6	35,9	53,8	38,4	38,6	43,9	25,2	42,7
MUFA	30,5	34,1	41,1	13,7	32,2	52	30	36,8	27,7	36,5	40,8	10,4	35,7	35,5	18,4	23,9	13,5	31,8	32,1	29,5	11,6	23	35,8	18,5	8,3
DUFA	3,9	10,1	10,5	30,1	12,5		9	15,7	18,7	2,4	12,6	21,5	12,6	8,5	6	16,7	8,8	11,1	8	8,6	41,2	6,4	11	12	20,4
TUFA	0,2	5,3	3,8	19,8	15,9		29,2	15,7	10,1	1,9	20,6	31	8,9	15,9	36,3	29,5	39,7	9,5	13,9	7	8,2	19,8	8,3	38,6	23,3
PUFA	17,3		0,9		12,8		13,6	0,6		4,7	0,5		0,8	2,4	2,6	2,4	3,7		9,5	1,1	0,6	12,2	1	5,7	5,3

Quanto à composição, a espécie D74Z destaca-se por apresentar elevado teor de ácido mirístico (C14:0), (35,9%), enquanto as demais apresentam teores que permeiam entre 0,2% a 9,7%.

O ácido palmítico (C16:0) é o ácido predominante em grande parte das espécies, com valores entre 10% e 47,3%. Esse ácido pode ser utilizado como surfactante em produtos de limpeza e na produção de cosméticos, sendo sua principal fonte atualmente a palma (dendê) que produz cerca

de 40% (ZAMBIAZI et al., 2007).

O ácido palmitoléico também merece destaque por estar presente em todas as espécies variando desde 0,3% até 41,4%. Apresentando aplicações importantes para a indústria por constituir o grupo dos ácidos graxos essenciais. A literatura afirma que a concentração desse ácido diverge bastante entre as espécies, e que esta pode ser induzida em cultivos para acréscimos no seu teor. A exemplo da espécie *Chlorella minutíssima*, que quando cultivada em condições otimizadas

(35°C, 2500 lux, fonte de carbono NaHCO_3 e concentração de NO_3^- de $1,0 \text{ g L}^{-1}$) propiciou um teor considerável deste ácido de 82,63% (COSTA et al., 2006).

O ácido hexadecatrienóico (C16:3) não é comumente encontrado em oleaginosas tradicionais, mas em algumas microalgas apresenta-se com valores consideráveis, a exemplo das espécies D127WC (18,3%), D173WC (14,7%), D124WC (11%) e D125WC (10%). Este ácido, em relação ao biodiesel, pode causar problemas de estabilidade, mas apresenta potencialidade em aplicações nutricionais por fazer parte do grupo dos ω -3. Fato este que demonstra a viabilidade destas espécies, já que o consumo de ω -3 obtido de microalgas é benéfico para o desenvolvimento humano, e para a prevenção de problemas coronários, câncer, diabetes, fibrose cística, artrites, asma, esquizofrenia e depressão (VON SHACKC, 2008; FERREIRA et al., 2013).

O ácido esteárico (C18:0), que tem predominância em diversas oleaginosas, é encontrado em concentrações irrisórias nas microalgas avaliadas, com exceção da espécie D115WC (9,8%). Contudo, esses valores podem ser elevados para outras cepas de microalgas, a exemplo de *Cyanobacterium aponinum* e *Phormidium* sp. analisadas por Karatay e Dönmez (2011), que apresentaram teores de 29,4% e 47,6%, respectivamente.

Os ácidos insaturados oléico, linoléico e linolênico são encontrados em elevados teores na maioria das espécies, ressaltando-se os valores para o linolênico que é encontrado em até 28% nas microalgas, o qual se mostra extremamente propenso aos processos oxidativos do óleo e, conseqüentemente, do biodiesel produzido.

A M3C (*Synechocystis aquatilis*) é uma espécie com potencialidade para indústria alimentícia e farmacêutica por conter 14% de eicosapentaenóico (EPA - C20:5), extremamente importante dentro do grupo dos ômega. O ácido

estearidônico (C18:4), também se destaca para estas aplicações, sendo encontrado com valores consideráveis nas espécies D137WC (11,3%) e D132WC (9,5%), em quantidades superiores ao obtido em óleo de peixe, por exemplo. (MOURA et al., 2006).

A cepa M27C apresentou 11,2% de C21:0 (ácido heneicosanóico) e a D61Z 4,7% de C24:0 (ácido lignocérico), ácidos de cadeia saturada longa, composição que não é comum em culturas oleaginosas terrestres, e que pode conferir problemas de fluxo ao biodiesel produzido por essas microalgas. As cadeias longas saturadas apresentam facilidade de acoplamento de suas estruturas e propensão à nucleação e cristalização a baixas temperaturas. Mas, em contrapartida estas podem propiciar índices de cetano elevados para o biocombustível produzido (KNOTHE, 2008).

Ao analisar quantitativamente as amostras quanto ao teor de saturação verifica-se que as espécies M6C, M84C e D133WC apresentam mais que 50% de ésteres saturados. Merecendo destaque ainda, a M3C, a D74Z e a D128WC que apresentam valores próximos, mas não superiores a este quantitativo. Estes elevados teores de saturação propiciam biodiesel com elevada estabilidade, mas em contrapartida pode gerar um combustível com problemas de fluidez (LÔBO et al., 2009).

Ao avaliar em conjunto os teores de ésteres saturados e monoinsaturados devem ser elencadas as espécies M3C, M6C, M27C, D74Z, D82Z, M84C, D115WC, D121WC, D132WC, D133WC e a D139WC que apresentam teores entre 70 e 85% e demonstram viabilidade para produção de biodiesel. A associação desses dois grupos confere maior estabilidade oxidativa ao combustível obtido devido a menor presença de insaturações, que são sítios de ataque do oxigênio ou de outros agentes que desencadeiam as reações radiculares que degradam o biodiesel. Além do que, a presença de uma ligação dupla propicia melhora no desempenho

das propriedades de fluxo do combustível (PARK et al., 2008)

Nascimento et al., (2013) avaliaram várias estirpes de microalgas e identificaram *Ankistrodesmus falcatus*, *Coelastrum microporum*, *Chlorella vulgaris* e *Botryococcus terribilis* com perfil de ácido graxo predominantemente saturado, e as *Desmodesmus brasiliensis*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, e *Botryococcus braunii* majoritariamente monoinsaturado. Os mesmos autores inferiram ainda que duas espécies *Chlamydomonas* sp. e *Scenedesmus obliquus* apresentaram um total de ácidos saturados e monoinsaturados em torno de 90%, valor este superior ao encontrado para a *Chlamydomonas* sp. (D132WC) e as espécies de *Scenedesmus* (D115WC e D125WC) relatadas no presente estudo.

Quando se avalia o teor de TUFA e PUFA das microalgas constata-se teores em torno de 40% em algumas cepas, como a D76Z, D124WC, D127WC e D173WC. Esses valores são extremamente elevados para um biodiesel, visto que estas estruturas propiciam susceptibilidade à oxidação e, conseqüentemente, menor tempo de estocagem e problemas no funcionamento dos motores, fato que discriminaria estas cepas como não potenciais para produção de biodiesel.

Elevados teores de ésteres poli-insaturados também foram observados para microalgas que são relatadas na literatura como fontes de matéria-prima potencial para a produção de biodiesel, tais como *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella tetiolecta* e *Neochloris oleabundans* (GOUVEIA e OLIVEIRA, 2009). Vale ressaltar que essas microalgas podem agregar valor ao processo produtivo do biodiesel, caso esses compostos forem destinados à indústria farmacêutica ou de alimentos.

CONCLUSÕES

Ao analisar as vinte e cinco espécies isoladas

neste estudo, constatou-se que todas apresentam significância em algum parâmetro analisado. Contudo, para produção de biodiesel destacam-se as espécies M84C, D101Z, D115WC, D121WC, D132WC e D133WC, por reunirem elevadas taxas de crescimento celular, concentração de biomassa e teor de ésteres superior à soja, além de apresentarem uma composição de ácidos graxos favoráveis para a produção de biodiesel que se adequam às normatizações de qualidade especificadas pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).

REFERÊNCIAS

- AHMAD, A. L.; YASIN, N. H. M.; DEREK, C. J. C.; LIM, J. K. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v.15, p.584–593, 2011.
- BEHZADI, S.; FARID, M. M. Review: examining the use of different feedstock for the production of biodiesel. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v.2, p.480–486, 2007.
- BELLINGER, E. G.; SIGEE, D. C. Algas de água doce: Identificação e uso como bioindicadores. **Journal of Applied Phycology**, v.25, n.4, p. 265-1266, 2010.
- BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. Gêneros de algas de águas continentais do Brasil. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2006.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.
- COSTA, J.A. V.; RADMANN, E. M.; CERQUEIRA, V. S. E.; SANTOS, G. C. E.; CALHEIROS, M. N. Perfil de ácidos graxos das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Chlorella minutíssima* cultivadas em diferentes condições. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.17, n.4, p.429-436, 2006.
- DEMIRBAS, A.; DEMIRBAS, M.F. Importance of

- algae oil as a source of biodiesel. **Energy Conversion and Management**, v.52, p.163–170, 2011.
- DEMIRBAS, M. F. Biofuels from algae for sustainable development. **Applied Energy**, v.88, p.3473-3480, 2011.
- FERREIRA, S. P.; SOUZA-SOARES, L.; COSTA, J. A. V. Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 275-287, 2013.
- FRANCESCHINI, I. M.; BURLIGA, A. L.; REVIERS, B.; PRADO, J. F.; REZIG, S. H. Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- FOGG, G.E.; THAKE, B. Algae Cultures and Phytoplankton Ecology. third ed. The University of Wisconsin Press Ltd., London, 1987.
- GEITLER, L. Cyanophyceae. In: RABENHORST, L. **Akademische Verlags- gesellschaft**, Leipzig, v. 14, p.1196, 1932.
- GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A. C. Microalgae as raw material for biofuels production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, p. 269-274, 2009.
- GRIFFITHS, M.J.; HARRISON, S.T.L. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. **J. Appl. Phycol**, v.21, p.493-507, 2009.
- GUILLARD, R. R. L.; LORENZEN, C. J. Yellow-green algae with chlorophyllidc. **Journal of Phycology**, v.8, p.10-14, 1972.
- HINDAK, F. Studies on the Chloroccal Algae (Chlorophyceae). Bratislava: Veda Publishing House of The Slovak Academy of Sciences, p.225, 1990.
- HO, S. H.; LAI, Y. Y.; CHIANG, C. Y.; CHEN, C. N. N.; CHANG, J. S. Selection of elite microalgae for biodiesel production in tropical conditions using a standardized platform. **Bioresource Technology**, v.147, p.135–142, 2013.
- HU, Q.; SOMMERFELD, M.; JARVIS, E.; GHIRARDI, M.; POSEWITZ, M.; SEIBERT, M.; DARZINS, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. **Plant Journal**, v.54, p.621–639, 2008.
- JL, F.; HAO, R.; LIU, Y.; LI, G.; ZHOU, Y.; DONG, R. Isolation of a novel microalgae strain *Desmodesmus* sp. and optimization of environmental factors for its biomass production. **Bioresource Technology**, v.148, p.249–254, 2013.
- KARATAY, S. E.; DÖNMEZ, G. Microbial oil production from thermophile cyanobacteria for biodiesel production. **Applied Energy**, v.88, n.11, p.3632–3635, 2011.
- KNOTHE, G. “Designer” biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. **Energy & Fuels**, v. 22, n. 2, p. 1358-1364, 2008.
- KOMARÉK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprokaryota. Teil: Oscillatoriales. In : BÜDEL, B.; KRIENITZ, L.; GÄRTNER, G.; SCHAGERL, M. **Süßwasserflora von Mitteleuropa** München: Elsevier Spektrum Akademischer Verlag. p.759, 2005
- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: quality parameters and analytical methods. **Química Nova**, v.32, n.6, p. 1596-1608, 2009.
- LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. 1. ed. São Paulo: Rima, 2006.
- MENEZES, R. S.; LELES, M. I. G.; SOARES, A.T.; FRANCO, P. I. M.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; SANT’ANNA, C. L.; VIEIRA, A. A. H. Avaliação da potencialidade de microalgas dulcícolas como fonte de matéria-prima graxa para a produção de biodiesel. **Química Nova**, v.13, n.1, p.10-15, 2013.
- MENEZES, R. S.; SOARES, A. T.; LOPES, R. G.; MAGNOTTI, C.; DERNER, R. B.; MORI, C. C.; VIEIRA, A. A. H.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Evaluation of fatty acid composition of the microalgae *Choricystis minor* var. minor according to two different nutrient feeding strategies. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 7, p. 043117, 2015.

- MOURA, J. M. L. N.; GONÇALVES, L. A. G.; GRIMALDI, R.; SOARES, M. S.; RIBEIRO, A. P. B. Otimização das Condições de Produção de Ésteres Etilícos a partir de Óleo de Peixe com Elevado Teor de Ácidos Graxos ω -3. **Química Nova**, v. 29, n.5, p.956-959, 2006.
- NASCIMENTO, I.; MARQUES, S.; CABANELAS, I.; PEREIRA, S.; DRUZIAN, J.; SOUZA, C.; VICH, D.; CARVALHO, G.; NASCIMENTO, M. Screening microalgae strains for biodiesel production: lipid productivity and estimation of fuel quality based on fatty acids profiles as selective criteria. **BioEnergy Research**, v.6, p.1–13, 2013.
- ONCEL, S. S. Microalgae for a macroenergy world. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.26, p.241–264, 2013.
- PARK, J. Y.; KIM, D. K.; LEE, J. P.; PARK, S. C.; KIM, Y. J.; LEE, J. S. Blending effects of biodiesels on oxidation stability and low temperature flow properties. **Bioresource technology**, v.99, n.5, p.1196-1203, 2008.
- PEREIRA, H.; BARREIRA, L.; CUSTÓDIO, L.; ALROKAYAN, S.; MOUFFOUK, F.; VARELA, J.; ABU-SALAH, K.; BEN-HAMADOU, R. Isolation and fatty acid profile of selected microalgae strains from the Red Sea for biofuel production. **Energies**, v.6, n.6, p.2773–2783, 2013.
- PRAGYA, N.; PANDEY, K. K.; SAHOO, P. A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v.24, p.159–71, 2013.
- ROLEDA, M. Y.; SLOCOMBE, S. P.; LEAKEY, R. J.; DAY, J. G.; BELL, E. M.; STANLEY, M. S. Effects of temperature and nutrient regimes on biomass and lipid production by six oleaginous microalgae in batch culture employing a two-phase cultivation strategy. **Bioresource Technology**, v.129, p.439–449, 2013.
- SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; AGUJARO, L. F.; CARVALHO, L. R.; SOUZA, R. C. R. Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras. Rio de Janeiro: Interciência. 2006.
- SCOTT, S. A.; DAVEY, M. P.; DENNIS, J. S.; HORST, I.; HOWE, C. J.; LEA-SMITH, D. J.; SMITH, A. G. Biodiesel from algae: challenge and prospects. **Current Opinion in Biotechnology**, v.21, p.277–286, 2010.
- SHEEHAN, J.; DUNAHAY, T.; BENEMANN, J.; ROESSLER, P. A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program: biodiesel from algae. NREL/TP-580-24190, National Renewable Energy Laboratory, USA, 1998.
- SINGH, A.; NIGAM, P. S.; MURPHY, J. D. Mechanism and challenges in commercialisation of algal biofuels. **Bioresource Technology**, v.102, p.26–34, 2011.
- VON SHACKC, C. Omega-3 fatty acids: antiarrhythmic, proarrhythmic or both? **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 11, p. 9-94, 2008.
- WALNE, P. R. Studies on the food values of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. **Minist. Agric. Fish. & Food**, London. v. 25, n. 5, p.62, 1970.
- WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J. An outlook on microalgal biofuels. **Science**, v.329, p.796–799, 2010.
- YAO, L.; GERDE, J. A.; LEE, S. L.; WANG, T.; HARRATA, K. A. Microalgae lipid characterization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.63, p.1773-1787, 2015.
- ZAMBIAZI, R. U. I. C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M. W.; MENDONÇA, C. B. Fatty Acid Composition Of Vegetable Oils And Fats. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 111-120, 2007.
- Z A R R O U K , C . **C o n t r i b u t i o n a l'etuded'unecyanophycee: influence de divers facteurs physiques etchimiquessur la croissance et la photosynthese de Spirulina maxima (Setch et Gardner) Geitler**. Theises. Faculty of Science.Universite des Paris; 1966.