

Índice

- 25** **Comparação do potencial de bioabsorção dos metais potencialmente tóxicos Cd(II) e Pb(II) em biomassas in natura de casca de pequi (*Caryocar brasiliense Camb*), serragem de madeira teca (*Tectona grandis*) e orelha de pau (*Pycnopus sanguineus*)**
Comparison of the bioabsorption potential of highly toxic metals Cd(II) and Pb(II) in in natura biomasses from the peel of pequi (Caryocar brasiliense Camb), sawdust Teca wood (Tectona grandis) and wooden ear (Pycnopus sanguineus)
- 32** **Estimativa da incerteza de medição associada a ensaio químico qualitativo de derrames de óleo por FT-IR**
Estimation of measurement uncertainty associated with a qualitative chemical test of oil spills by FT-IR
- 41** **A odisséia da síntese do ácido sulfúrico**
The odyssey of the sulfuric acid synthesis process
- 55** **Utilização de resíduos gordurosos para produção de biodiesel via enzimática**
Use of fatty wastes for biodiesel production via enzymatic process
- 64** **Recuperação de Pd(II) de catalisadores automotivos exauridos sobre a resina de troca iônica 2-vinilpiridina-divinilbenzeno**
Pd(II) recovery from exhausted automotive catalysts using 2-vinylpyridine-divinylbenzene ion exchange resin
- 71** **Compostos fenólicos e atividades biológicas de amostras comerciais de pólen apícola produzidas em diferentes estados brasileiros**
Phenolic compounds and biologic activities of commercial samples of bee pollen from different Brazilian states
- 82** **Avaliação de método de neutralização dos ácidos graxos livres presentes em óleos vegetais como pré-tratamento para síntese de biodiesel por transesterificação alcalina**
Evaluation of a procedure for neutralization of free fatty acids in vegetable oils as pre-treatment step for biodiesel synthesis via alkaline transesterification
- 90** **Alternativas mais seguras para a reação de bromação em pequena escala: bromação do lapachol**
Safer alternative to bromination reaction in benchtop-scale: bromination of lapachol

Comparação do potencial de bio sorção dos metais potencialmente tóxicos Cd(II) e Pb(II) em biomassas *in natura* de casca de pequi (*Caryocar brasiliense camb*), serragem de madeira teca (*tectona grandis*) e orelha de pau (*Pycnoporus sanguineus*)

Comparison of the bio sorption potential of highly toxic metals Cd(II) and Pb(II) in in natura biomasses from the peel of pequi (Caryocar brasiliense Camb), sawdust Teca wood (Tectona grandis) and wooden ear (Pycnoporus sanguineus)

Jéssica Mesquita do Nascimento¹; Jonas Juliermerson Silva dos Santos²;
Rogério Morais Nascimento²; Jorge Diniz de Oliveira²

¹ Escola de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro

² Centro de Estudos Superiores de Imperatriz - Universidade Estadual do Maranhão
jessicanascimento14@hotmail.com

Submetido em 12/02/2015; Versão revisada em 26/03/2015; Aceito em 31/03/2015

Resumo

Uma alternativa para a remoção de metais potencialmente tóxicos como os íons Cd(II) e Pb(II) é a bio sorção que pode ser realizada através de biomassas como a Casca de Pequi (*Caryocar brasiliense Camb*), Serragem de Madeira Teca (*Tectona grandis*) e o fungo Orelha de Pau (*Pycnoporus sanguineus*). Este artigo tem como objetivo comparar o potencial de bio sorção das biomassas Casca de Pequi, Serragem de Madeira Teca e o fungo Orelha de Pau em soluções sintéticas mistas de íons Cd(II) e Pb(II). Os resultados demonstraram que as biomassas possuíram boas capacidades e taxas de retenção das espécies metálicas em estudo. Entretanto a biomassa que possuiu melhor bio sorção para o íon Cd(II) foi a Serragem de Madeira Teca e para o íon Pb(II) a biomassa Casca de Pequi.

Palavras-chave: biomassas, potencial de bio sorção, metais tóxicos.

Abstract

An alternative to remove potentially toxic metals such as Cd(II) and Pb(II) is bio sorption can be performed using biomasses such as Bark Pequi (*Caryocar brasiliense Camb*), Sawdust Wood Teca (*Tectona grandis*) and the fungus Ear Pau (*Pycnoporus sanguineus*). This article aims to compare the potential of biomass bio sorption Bark Pequi, Sawdust Wood Teak and fungus Ear Pau in mixed synthetic solutions of Cd(II) and Pb(II). The results showed that the biomass and possessed it good capacity retention rates of metal species under study. Meantime biomass that has owned better bio sorption for ion Cd(II) was the Sawdust Wood Teca and ion Pb(II) biomass Bark Pequi. **Keywords:** biomass, potential to bio sorption, toxic metals.

INTRODUÇÃO

A industrialização e o aumento populacional acarretou uma maior produção de efluentes contendo íons metálicos que quando lançados no

ambiente contaminam o solo e os lençóis freáticos (LESMANA, *et al.* 2009). A maioria dos metais potencialmente tóxicos são prejudiciais em em pequenas concentrações como os íons Cd(II) e

Pb(II), (ELANGO VAN, PHILIP e CHANDRARAJ, 2008).

Os métodos convencionais de tratamento de efluentes contendo metais tóxicos são onerosos e não possui boa eficiência de remoção (KUMAR, *et al.* 2012). Uma alternativa estudada para a remoção destes metais em solução é a biossorção que pode ser realizada através de um biossorvente como a Casca de Pequi (*Caryocar brasiliense Camb*), Serragem da Madeira Teca (*Tectona grandis*) e o fungo Orelha de Pau (*Pycnoporus sanguineus*).

Abiossorção é o processo de adsorção que se refere à ligação passiva de íons metálicos por biomassa viva ou morta. Define-se biomassa toda matéria orgânica de origem vegetal, animal ou microbiana incluindo os materiais procedentes de suas transformações naturais ou artificiais (PINO, 2005).

Diversas biomassas sejam elas vivas ou mortas estão sendo utilizadas como biossorventes de metais tóxicos a partir de soluções aquosas. Isto se deve ao fato da maioria dos biossorventes empregados serem ricos em ligantes orgânicos e/ou grupos funcionais que possuem papel importante na retenção de diversos metais potencialmente tóxicos. Os principais grupos funcionais são as carboxilas, hidroxilas, sulfato, fosfato e grupo amina (HE e CHEN, 2014).

O uso de biomassas na biossorção de contaminantes em tratamento de efluentes possui o benefício de ter capacidade biossortiva que engloba tanto metais quanto compostos orgânicos (MUÑOZ, *et al.* 2012). Além de a biomassa ter baixo custo, pois muitas são adquiridas por meio de descartes industriais urbanos, agrícolas e florestais (BONIOLO, 2008).

No Brasil são produzidos os mais diversos subprodutos e resíduos agroindustriais como bagaços de cana-de-açúcar, caju, coco verde e outras frutas (SOUSA, *et al.* 2007) em virtude da grande produção agrícola do país. Entretanto, a disposição dos resíduos gerados nestes setores,

está se transformando em um sério problema ambiental (RODRIGUES, *et al.* 2006).

A principal vantagem do processo de separação por biossorção, para o tratamento de resíduos líquidos sobre os métodos convencionais está relacionada à fácil regeneração do biossorvente que aumenta a economia do processo tornando possível a sua reutilização em ciclos de sorção múltipla (SELATNIA, *et al.* 2004).

A otimização do ciclo sorção/dessorção resulta em efluente livre de metal e pequeno volume de alta concentração de metal em soluções dessorvidas, facilitando uma recuperação do metal por processos convencionais (NASERNEJAD, *et al.* 2005). Cabe ressaltar que, o biossorvente usado e carregado com metais pode ser incinerado em temperaturas moderadas e depositado em aterros reduzindo o volume de resíduos líquidos (PINO e TOREM, 2011).

A literatura apresenta trabalhos com resíduos de cenoura, cascas de amendoim, arroz, nozes, bagaço de cana-de-açúcar, serragem de madeira entre outros (JUNIOR, *et al.* 2007). Em seus estudos biossortivos empregando a casca de banana no tratamento de efluentes da indústria têxtil Namasivayam e Kanchana (1992) encontraram capacidade máxima de biossorção de 13,10 mg g⁻¹ para o corante violeta.

Namasivayam e Yamuna (1995) utilizaram o biogás na biossorção de Cr(VI), os resultados apontaram que o biogás possui boa eficiência de retenção de Cr(VI) no tratamento de águas residuárias contendo este metal. A biomassa da palha de coco como biossorvente de corantes presentes em efluentes apresentaram capacidades máxima de biossorção de 4,3 a 20,2 mg g⁻¹ (NAMASIVAYAM, *et al.* 2001). Entretanto Raghuvanshi, Singh e Kaushik trabalharam com o bagaço *in natura* e modificado quimicamente no tratamento de águas contendo corantes azuis os seus estudos evidenciaram que a modificação química do bagaço melhorou a sua capacidade de

retenção.

Diante de tantas biomassas encontradas na literatura evidenciasse a necessidade de um estudo comparativo a respeito do potencial de bioissorção. Este trabalho tem como objetivo comparar o potencial de bioissorção das biomassas Casca de Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb), Serragem de Madeira Teca (*Tectona grandis*) e o fungo Orelha de Pau (*Pycnoporus sanguineus*) em relação aos íons Cd(II) e Pb(II) em soluções mistas de íons Cd(II) e Pb(II).

MATERIAIS E MÉTODOS

Limpeza, equipamentos, reagentes e soluções

Toda vidraria e recipientes para armazenamento de soluções utilizado durante o experimento foram lavados com detergente, água destilada, solução de ácido nítrico e enxaguados com água deionizada. Os reagentes utilizados foram de grau analítico P. A., as soluções de cádmio e chumbo foram preparadas a partir dos sais cádmio (II) $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Vetec) e Chumbo (II) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Vetec). As soluções de cádmio e chumbo foram padronizadas com Na_2EDTA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O teor de metais foi determinado por Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Chama (FAAS) modelo VARIAN – Espectra AA/55.

Obtenção e identificação do material bioissorvente

Casca de Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb)

As amostras de Casca de Pequi foram adquiridas em feiras e nos mercados da cidade de Imperatriz-MA, em seguida foram retirados os frutos. As cascas foram submetidas à secagem, em temperatura ambiente aproximadamente 28°C para tirar o excesso de água, depois de secas foram levadas à estufa de circulação de ar por 24 horas a temperatura de 40°C , decorrido o tempo de secagem as amostras foram trituradas em liquidificador industrial para obtenção do pó.

Posteriormente, as amostras foram peneiradas em peneira de (0,045 mm) e armazenadas em frasco de polietileno de cor escura.

Serragem de Madeira Teca (*Tectona grandis*)

O pó de serragem de Teca (*Tectona grandis*) foi fornecido pela Nobleinvest Atividades Rurais LTDA localizado no município de São Miguel do Tocantins-TO e pela movelaria Lisboa Móveis localizada na Cidade de João Lisboa-MA a 12 km de Imperatriz-MA. O material foi peneirado a fim de se obter granulométrica mais homogênea em peneiras de 0,045 mm para condução dos ensaios de bioissorção.

Orelha de Pau (*Pycnoporus sanguineus*)

A amostra de orelha de pau (*Pycnoporus sanguineus*) foi adquirida nas árvores localizadas no pátio do Centro de Estudos Superiores de Imperatriz CESI-UEMA e residências no município de Imperatriz-MA. Após a coleta o material foi submetido à identificação no Laboratório de Botânica do Centro de Estudos Superiores de Imperatriz CESI/UEMA. O material após a identificação foi submetido à secagem ao ar em temperatura ambiente aproximadamente 28°C , decorrido o tempo de secagem a amostra foi triturada em liquidificador industrial para obtenção do pó. Posteriormente, as amostras foram peneiradas em peneira de (0,045 mm) e armazenadas em frasco de polietileno de cor escura.

Experimentos de bioissorção

O potencial de bioissorção foi avaliado através dos estudos de capacidade e eficiência de bioissorção. Uma série de frascos (erlenmeyers de 125 mL) contendo 10, 15, 20, 30, 40 e 50 gramas dos bioissorventes *in natura* foram colocados em contato com 50 mL de solução bielemtar Cd(II) e Pb(II) com concentração de 25 mg L^{-1} , sob agitação de 20 rpm, durante 180 minutos, sendo o pH da biomassa

ajustado para 5,0 pois em faixas de pH acima deste valor os íons em estudo precipitam. Após o período de agitação, cada mistura foi filtrada com auxílio de uma bomba de vácuo em filtro de membrana 0,45 µm.

As concentrações residuais foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica com chama (FAAS). Todos os experimentos de bioissorção foram realizados em duplicata e à temperatura ambiente (25 30°C).

A capacidade de bioissorção foi determinada segundo a (Equação 1), (MENDHAM, *et al.* 2002). A eficiência de bioissorção dos bioissorventes foi determinada utilizando a percentagem de remoção do adsorvato de acordo com a (Equação 2), (PORPINO, 2009).

$$q = \left(\frac{C_i - C_e}{m} \right) * V \quad \text{Equação (1)}$$

$$E = \left(\frac{C_i - C_e}{C_i} \right) * 100 \quad \text{Equação (2)}$$

Onde:

C_i = Concentração inicial da solução em (mg L^{-1})

C_e = Concentração de equilíbrio em (mg L^{-1})

E = Eficiência de bioissorção em (%)

q = Capacidade de bioissorção em (mg kg^{-1})

m = Massa do bioissorvente em (g)

V = Volume da solução aquosa sintética com as espécies metálicas em estudo (L)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Capacidade de bioissorção

A determinação da capacidade de bioissorção (q) do metal pelos bioissorventes está baseada no balanço do material do sistema, ou seja, todo o adsorvato removido da solução deve estar presente nos bioissorventes (MONTANHER, 2009). O estudo comparativo da capacidade de bioissorção das biomassas Casca de Pequi, Serragem de Madeira Teca e o fungo Orelha de Pau para o íon Cd(II) representado na (Figura 1) evidenciou que a

biomassa que possuiu maior capacidade de bioissorção foi a Serragem de Madeira Teca ($6,3 \text{ mg kg}^{-1}$) e a que possuiu a menor capacidade de bioissorção foi à biomassa Casca de Pequi ($1,2 \text{ mg kg}^{-1}$).

Na (Figura 1) observamos que ambas as biomassas em estudo possuíram as suas maiores capacidades de bioissorção na menor massa trabalhada que foi 10 gramas. Sendo respectivamente para Casca de Pequi ($3,3 \text{ mg kg}^{-1}$), Serragem de madeira Teca ($6,3 \text{ mg kg}^{-1}$) e o fungo Orelha de Pau ($5,4 \text{ mg kg}^{-1}$).

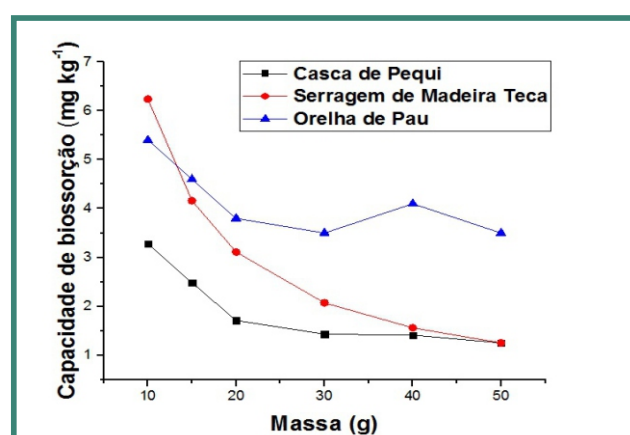


Figura 1. Capacidade de bioissorção do íon Cd(II).

Conforme as concentrações das biomassas presentes em solução mista metálica aumentam observamos um decréscimo na capacidade de bioissorção, isto pode ser justificado pela saturação dos sítios ativos presentes nas biomassas. Entretanto a biomassa do fungo Orelha de Pau na concentração de 40 gramas de bioissorvente apresentou um aumento na capacidade de sorção seguido de um decréscimo evidenciando que a biomassa fúngica assim como as outras analisadas não atingiram o equilíbrio de bioissorção.

Em seus estudos com biomassa de bagaço de caju Moreira *et. al.* (2009), obteve capacidade de bioissorção para o íon Cd(II) de ($2,49 \text{ mg g}^{-1}$). Albertini, Carmo e Prado Filho (2007) em seus estudos de adsorção de Cd(II) por bagaço de cana de açúcar e serragem constatou que no tempo de contato de 4 horas a biomassa da serragem

constatou que no tempo de contato de 4 horas a biomassa da serragem apresentou baixa concentração de metal adsorvido.

Entretanto o estudo comparativo do potencial de bioissorção para as biomassas Casca de Pequi, Serragem de Madeira Teca e Orelha de Pau evidenciaram uma boa capacidade de bioissorção na menor concentração de biomassas trabalhadas.

A (Figura 2) representa a capacidade de bioissorção para o íon Pb(II), observa-se que a biomassa que possuiu maior capacidade de bioissorção foi a Casca de Pequi ($6,2 \text{ mg kg}^{-1}$) e a menor capacidade a biomassa Serragem de Madeira Teca ($1,1 \text{ mg kg}^{-1}$).

O mesmo comportamento evidenciado no estudo da capacidade de bioissorção para o íon Cd(II) foi observado para o íon Pb(II) onde a partir do aumento da concentração da biomassa ocorre um decréscimo da capacidade bioissorção.

Em seus estudos com biomassa de casca de coco verde Sousa *et al.* (2007), obteve capacidade de bioissorção para o íon Pb(II) de ($3,06 \text{ mg g}^{-1}$).

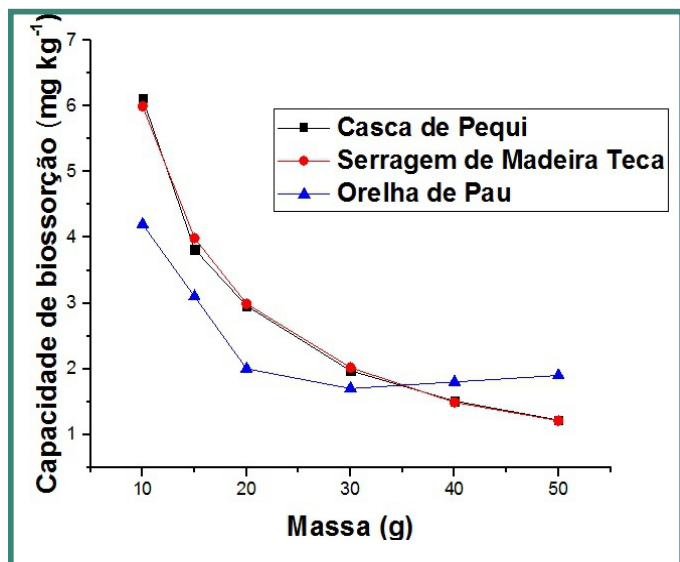


Figura 2. Capacidade de bioissorção do íon Pb(II).

Nascimento *et al.* (2014) em seus estudos de bioissorção utilizando biomassa de Casca de Pequi modificada e *in natura* constatou que o íon Pb(II) deteve melhor capacidade de bioissorção do que o

íon Cd(II). Fato este que também foi evidenciado nos ensaios de bioissorção para a biomassa de Casca de Pequi analisada.

A biomassa fúngica apresentou capacidade de bioissorção inferior comparada às outras biomassas em estudo.

Porém a partir da concentração de 30 gramas de bioissorvente a biomassa fúngica deteve capacidade de sorção melhor do que a Casca de Pequi e Serragem de Madeira Teca. Para Purkayastha, Mishra e Biswas (2014) a biomassa microbiana, como bioissorvente de metais potencialmente tóxicos surgiu como uma boa alternativa além de ser econômica e amigavelmente ecológica.

Eficiência de bioissorção

A (Figura 3) representa o estudo da eficiência de bioissorção para o íon Cd(II) comparando o potencial de adsorção das biomassas Casca de Pequi, Serragem de Madeira Teca e o fungo Orelha de Pau. A biomassa que possuiu a maior eficiência de bioissorção foi a Serragem de Madeira Teca (99,8 %) e a menor eficiência de bioissorção foi da biomassa Casca de Pequi (54,6 %).

A análise da eficiência de bioissorção para o íon Cd(II) demonstrou que a biomassa de Serragem de Madeira Teca atingiu o equilíbrio de bioissorção. Porém as biomassas da Casca de Pequi e Orelha de Pau apresentaram melhor eficiência de bioissorção conforme o aumento da concentração das referidas biomassas em solução sintética mista metálica.

De acordo com Tarley e Arruda (2003), quando processos adsorptivos ocorrem rapidamente, em sua grande maioria estes são associados com o fenômeno de troca iônica, enquanto que, processos menos específicos, como por exemplo, os de complexação, os tempos envolvidos são consideravelmente maiores.

Assim pode-se inferir que o fenômeno de bioissorção que ocorreu na parede celular das biomassas em estudo se dá por troca iônica.

CONCLUSÃO

A comparação do potencial de bioissorção dos metais potencialmente tóxicos Cd(II) e Pb(II) em relação às biomassas Casca de Pequi (*Caryocar brasiliense Camb*), Serragem de Madeira Teca (*Tectona grandis*) e Orelha de Pau (*Pycnoporus sanguineus*) evidenciou que as biomassas possuem boa capacidade e eficiência de remoção das espécies metálicas em estudo.

O estudo da capacidade de bioissorção ressaltou que para o íon Cd(II) a biomassa que possuiu melhor capacidade de sorção foi a Serragem de Madeira Teca ($6,3 \text{ mg kg}^{-1}$) e a que possuiu menor capacidade foi a Casca de Pequi ($1,2 \text{ mg kg}^{-1}$). Entretanto o estudo da capacidade de bioissorção para o íon Pb(II) evidenciou que a biomassa que possuiu melhor capacidade de sorção foi a Casca de Pequi ($6,2 \text{ mg kg}^{-1}$) e a menor capacidade foi a Serragem de Madeira Teca ($1,1 \text{ mg kg}^{-1}$). Estes dados mostram que os íons metálicos em estudo competiram entre si, pelos sítios ativos presentes nas biomassas.

O estudo da eficiência de bioissorção para o íon Cd(II) revelou que a biomassa que possuiu melhor eficiência de retenção foi a Serragem de Madeira Teca (99,8%) enquanto que a menor eficiência foi encontrada para a biomassa de Casca de Pequi (55,6%). Porém para o íon Pb(II) a biomassa que possuiu melhor eficiência de bioissorção foi a Casca de Pequi (99,7%) e a menor taxa de retenção foi encontrada para a biomassa do fungo Orelha de Pau (63%).

Os resultados demonstraram que a espécie metálica que possuiu melhor capacidade de bioissorção foi o íon Cd(II), mas cabe ressaltar que os valores máximos e mínimos de capacidade de sorção entre os íons Cd(II) e Pb(II) foram aproximados. Em relação ao estudo de eficiência de bioissorção observa-se que o íon que deteve maior taxa de retenção foi o íon Cd(II), entretanto os valores máximos de remoção para os íons Cd(II) e Pb(II) foram semelhantes entre si.

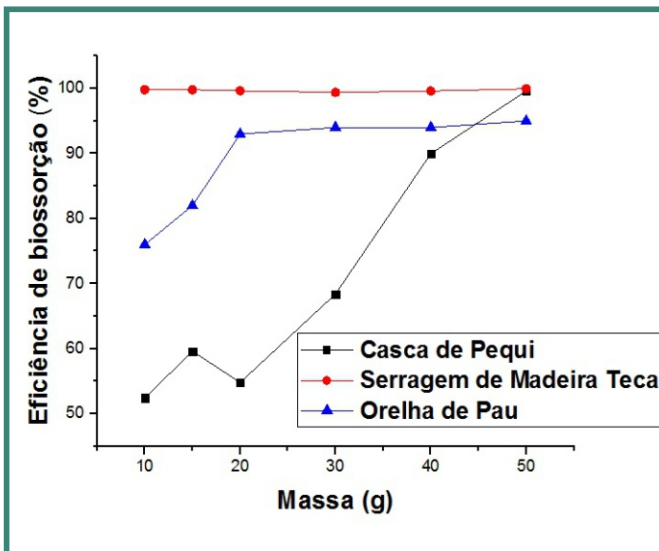


Figura 3. eficiência de bioissorção do íon Cd(II).

A (Figura 4) representa o estudo de eficiência de bioissorção para o íon Pb(II). A biomassa que possuiu melhor eficiência de bioissorção foi a Casca de Pequi (99,7 %) e a menor eficiência de bioissorção foi o fungo Orelha de Pau (63 %). Em seus estudos com biomassa de casca de coco verde Sousa *et. al.* (2007), encontrou eficiência de bioissorção para o íon Pb(II) de aproximadamente (98 %) de retenção, valor de remoção próximo ao atingido pela biomassa Serragem de Madeira Teca.

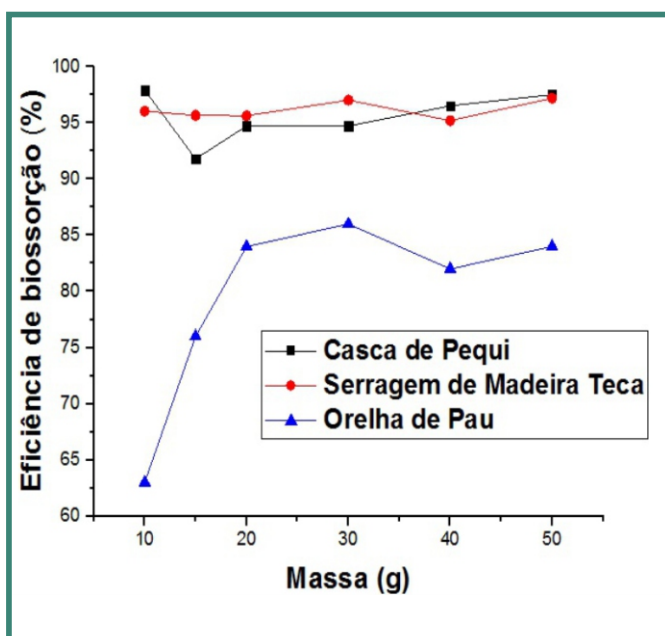


Figura 4. Eficiência de bioissorção do íon Pb(II).

REFERÊNCIAS

- ALBERTINI, S.; CARMO, L. F.; PRADO FILHO, L. G. Utilização de serragem e bagaço de cana de açúcar para adsorção de cádmio. **Ciê. Tecn. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 113-118, 2007.
- BONIOLO, M. R. **Biossorção de urânio nas cascas de banana**. 2008. 121 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- ELANGO VAN, R.; PHILIP, L.; CHANDRARAJ, K. Biosorption of chromium species by aquatic weeds: Kinetics and mechanism studies. **J. Hazard. Mater.**, v. 152, n. 1, p. 100-112, 2008.
- HE, J.; CHEN, J. P. A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass: Materials, performances, chemistry, and modeling simulation tools. **Bioresour. Technol.**, v. 60, p. 67-78, 2014.
- JUNIOR, O. K. *et al.* Adsorption of heavy metal ion from aqueous single metal solution by chemically modified sugarcane bagasse. **Bioresour. Technol.**, v. 98, n. 6, p. 1291-1297, 2007.
- KUMAR, R. *et al.* Metal tolerance and sequestration of Ni (II), Zn (II) and Cr (VI) ions from simulated and electroplating wastewater in batch process: Kinetics and equilibrium study. **Int. Biodeterior. Biodegrad.**, v. 66, n. 1, p. 82-90, 2012.
- LESMANA, S. O. *et al.* Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater. **Biochem. Eng. J.**, v. 44, n. 1, p. 19-41, 2009.
- MENDHAM, D.S.; O'CONNELL, A.M.; GROVE, T.S. Organic matter characteristics under native forest, long-term pasture, and recent conversion to eucalyptus plantations in Western Australia: Microbial biomass, soil respiration, and permanganate oxidation. **Aust. J. Soil Res.**, v. 40, n. 5, p. 859-872, 2002.
- MONTANHER, S. F. **Utilização da biomassa de bagaço de laranja como material sorvente de íons metálicos presentes em soluções aquosas**. 2009. 135 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Estadual do Maringá, Maringá, 2009.
- MOREIRA, S. A. *et al.* Remoção de metais de solução aquosa usando bagaço de caju. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1717-1722, 2009.
- MUÑOZ, A. J. *et al.* Heavy metal tolerance of microorganisms isolated from wastewaters: Identification and evaluation of its potential for biosorption. **Chem. Eng. J.**, v. 210, p. 325-332, 2012.
- NAMASIVAYAM, C.; KANCHANA, N. Waste banana pith as the adsorbent for color removal from wastewaters. **Chemosphere**, v. 25, p. 1691-1705, 1992.
- NAMASIVAYAM, C.; YAMUNA, R. T. Adsorption of chromium (VI) by a low cost adsorbent: biogas residual slurry. **Chemosphere**, v. 30, p. 561-578, 1995.
- NAMASIVAYAM, C. *et al.* Waste coir pith – a potential biomass for the treatment of dyeing wastewaters. **Biomass Bioenergy**, v. 21, p. 477-483, 2001.
- NASCIMENTO, J. M. *et al.* Biossorção dos íons Cd^{2+} e Pb^{2+} utilizando a biomassa Casca de Pequi (*Caryocar brasiliense Camb*) modificada com ácido cítrico. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v. 8, n. 1, p. 57-69, 2014.
- NASERNEJAD, B. *et al.* Comparison for biosorption modeling of heavy metals (Cr (III), Cu (II), Zn (II)) adsorption from wastewater by carrot residues. **Process Biochem**, v. 40, n. 3, p. 1319-1322, 2005.
- PINO, G. A. H. **Biossorção de metais pesados utilizando pó da casca de coco verde (Cocos nucifera)**. 2005. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.
- PINO, G. A. H.; TOREM, M. L. Aspectos fundamentais da biossorção de metais não ferrosos – estudo de caso. **Tecnol. Metal., Mater. Min.** São Paulo, v. 8, n. 1, p. 57-63, 2011.
- PORPINO, K. K. P. **Biossorção de ferro (II) por casca de caranguejo *ucides cordatus***. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Nome da faculdade, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- PURKAYASTHA, D.; MISHRA, U.; BISWAS, S. A comprehensive review on Cd (II) removal from aqueous solution. **Journal of Water Process Engineering**, n. 2, p. 105-128, 2014.
- RAGHUVANSHI, S. P.; SINGH, R.; KAUSHIK, C. P. Kinetics study of methylene blue dye bio – adsorption on bagasse. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 2, p. 35-43, 2004.
- RODRIGUES, R. F. *et al.* Adsorção de metais pesados em serragem de madeira tratada com Ácido Cítrico. **Eng. Sanit. Ambiental**. Rio de Janeiro, v. 11, n. 1, p. 21-26, 2006.
- SELATNIA, A. *et al.* Biosorption of Cd^{2+} from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. **Hydrometallurgy**. v. 75, n. 1, p. 11-24, 2004.
- SOUSA, F. W. *et al.* Uso da casca de coco verde como adsorbente na remoção de metais potencialmente tóxicos. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1153-1157, 2007.
- TARLEY, C. R. T.; ARRUDA, M. A. Z. Adsorventes naturais: potencialidades e aplicações da esponja natural (*Luffacy lindrica*) na remoção de chumbo em efluentes de laboratório. **Analytica**, v. 4, p. 25-31, 2003.

Estimativa da incerteza de medição associada a ensaio químico qualitativo de derrames de óleo por FT-IR

Estimation of measurement uncertainty associated with a qualitative chemical test of oil spills by FT-IR

William Romão Batista^{1,2,*}, Pedro Paulo de Oliveira Pinheiro¹; Fernanda Freyesleben Thomazelli¹; Silvia Regina Pinheiro Lopes¹; Cláudio Cerqueira Lopes², Rosangela Sabbatini Capella Lopes².

¹ Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira – IEAPM. Marinha do Brasil.

² Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. Instituto de Química - IQ.

*williamromao@yahoo.com.br

Resumo

A norma técnica ISO/IEC 17025:2005 (Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração), a qual especifica os requisitos para a competência de laboratórios em realizar ensaios e/ou calibrações, preconiza, como parte de seus requisitos técnicos, que o laboratório deva ter e aplicar procedimentos para a estimativa das incertezas de medição dos ensaios por ele realizados, com a alternativa de que em casos de impedimento do cálculo rigoroso, metrológica e estatisticamente válido, o laboratório deve pelo menos tentar identificar e fazer uma estimativa razoável da incerteza associada ao método. Considerando a escassez de trabalhos envolvendo a estimativa da incerteza associada a ensaios qualitativos, este trabalho tem como intenção apresentar a realização de uma estimativa do cálculo da incerteza associada a uma análise qualitativa comparativa de derrames de óleos onde se utiliza como técnica analítica a espectrometria de infravermelho com transformadas de Fourier - FTIR.

Palavras-chave: Incerteza de medição; ensaio qualitativo; espectrometria de infravermelho

Abstract

The technical standard ISO / IEC 17025: 2005 (General requirements for the competence of testing and calibration laboratories), which specifies the requirements for the competence of laboratories to perform tests and / or calibrations, determine, as part of their technical requirements, the laboratory must to have and to apply procedures for estimating measurement uncertainties of tests performed, with alternative that in cases of impediment of an accurate calculation, metrological and statistically valid, the laboratory should at least try to identify and make a reasonable estimate for the uncertainty associated with the method. Considering the scarcity of studies related to the calculation of the uncertainty associated with qualitative analysis, this work intends to present a procedure for estimate the uncertainty of measurement associated with a comparative qualitative analysis of oil spills using as analytical procedure Fourier Transform Infrared Spectroscopy - FTIR

Keywords: Uncertainty of measurement; qualitative test; infrared spectroscopy

INTRODUÇÃO

A norma técnica ISO/IEC 17025:2005 (Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração), utilizada

internacionalmente como parâmetro para acreditação de laboratórios de ensaios e de calibrações, preconiza, como parte de seus requisitos técnicos, que o laboratório sob

avaliação deva ter e aplicar procedimentos para a estimativa das incertezas de medição dos ensaios ou calibrações que realiza (ABNT, 2005).

A incerteza de medição é definida como sendo um parâmetro, não negativo, associado ao resultado da medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser razoavelmente atribuídos ao mensurando e reflete a falta de um completo conhecimento do seu real valor, compreendendo componentes que podem ser avaliados pela distribuição estatística de uma série de medidas experimentais, avaliação do Tipo A, ou também por outros meios que não a análise estatística como aqueles fundamentados na experiência ou mesmos advindos de outros tipos de informações, avaliação do Tipo B (INMETRO, 2013; EUROCHEM, 2012).

Em seu aspecto metrológico, a incerteza de medição está normalmente associada às medições empregadas tanto para calibrações como para ensaios químicos, sendo seus termos e definições, ditados pelo Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM) e pelo Guia para Expressão da Incerteza de Medição – (GUM, em inglês), facilmente correlacionados aos parâmetros utilizados e aos resultados quantitativos alcançados (INMETRO, 2012; BIPM, 2008). Contudo, ao considerarmos as peculiaridades de um ensaio qualitativo, o fácil entendimento e aplicação daquelas definições e termos começam a se desvirtuar e requerem uma melhor observação e o emprego de diferentes abordagens (AGUILERA *et al.*, 2006; MILMAN e KONOPELKO, 2004; VÁLCARCEL *et al.*, 2002).

Ensaio químicos qualitativos têm como característica básica a interpretação final de parâmetros de natureza não quantificável ou semiquantificável obtidos em uma análise. Como exemplos têm-se os ensaios químicos sensoriais e instrumentais normalmente utilizados para: *i*) identificação da presença de possíveis componentes específicos, os quais, em geral,

implicam em repostas binárias do tipo detectado/não-detectado, presença/ausência, positivo/negativo, sim/não, etc.; *ii*) classificação de uma amostra como um todo em comparação à outra amostra ou padrão (combina, não-combina, indeterminado, etc.), e *iii*) avaliação de outros parâmetros julgados aplicáveis dentro de uma técnica analítica empregada (TRULLOLS *et al.* 2004, 2005; RIOS *et al.* 2003; EUROCHEM 2003; PULIDO *et al.* 2002). Tais ensaios são substancialmente diferentes daqueles ensaios considerados estritamente quantitativos e requerem diferentes métodos metrológicos e estatísticos para sua avaliação, fugindo quase completamente dos conceitos amplamente empregados para o cálculo de incerteza de métodos quantitativos, sendo normalmente considerado e aceito o entendimento do termo incerteza como sendo o grau de confiabilidade (*reliability*) e precisão (*accuracy*) do procedimento analítico qualitativo (CÁRDENAS e VALCÁRCEL, 2005; MILMAN e KONOPELKO, 2004).

Em resumo, ao tratar-se de ensaios qualitativos, o entendimento do termo Incerteza de medição refere-se ao grau de aceitabilidade do ensaio, intrinsecamente relacionado à probabilidade de que seus resultados sejam errôneos. Ele descreve a ideia de uma região na qual há uma certeza probabilística de erro, ou seja, uma região em que falsos resultados podem ser obtidos.

Considerando a escassez de trabalhos envolvendo a estimativa da incerteza associada a ensaios qualitativos, este trabalho tem como objetivo apresentar a realização de uma estimativa do cálculo da incerteza associada à análise qualitativa comparativa de derrames de óleos utilizando como técnica analítica a espectrometria de infravermelho com transformadas de Fourier - FTIR. O método de espectrometria aqui empregado provê um ensaio presuntivo (*screening*) para a identificação de uma amostra de óleo desconhecido,

envolvido em um caso de derrame no mar, utilizando-se da comparação de seus espectros, na região do infravermelho médio, com aqueles obtidos de óleos oriundos de potenciais fontes causadoras do derrame (embarcações, plataformas, exsudações, etc.), de modo que o óleo desconhecido é qualitativamente identificado pelas similaridades verificadas entre os espectros de infravermelho (ASTM, 2011).

MATERIAIS E MÉTODOS

Visando obter uma quantidade significativa de dados qualitativos, foram preparadas, a partir de amostras de óleos disponíveis no laboratório de Geoquímica Ambiental do IEAPM, o seguinte conjunto de analitos: 01 amostra representando o derrame, 16 amostras totalmente iguais ao derrame (Combina) e 05 amostras com diferenças significativas (Não Combina, Indeterminada ou Provavelmente Combina) àquela do derrame. Cada amostra teve 1 mL transferido para um tubo de centrífuga e solubilizado com 10 mL de solvente pentano (Tedia). A solução foi tratada com 1 g de $MgSO_4$ anidro (Merck), para retirada de umidade, sendo submetida a forte homogeneização por vortex e centrifugada por 5 minutos a 1000 rpm. O sobrenadante foi transferido para vial e tratado com gás nitrogênio 5.0 (Linde) até completa remoção do solvente. Os extratos oleosos representativos do derrame e das fontes suspeitas foram então analisados em datas diferentes, e independentemente, por dois técnicos do laboratório, aqui nomeados Técnico 1 e Técnico 2, os quais usaram o mesmo equipamento IR-300 (Thermo Nicolet) e procedimento operacional, sendo efetuadas leituras na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} usando uma célula horizontal de refletância atenuada (HATR) de cristal de ZnSe.

Ensaio comparativo por FTIR

Os espectros obtidos para as amostras das

fontes suspeitas foram então comparados individualmente com o espectro obtido para a amostra do derrame, sendo avaliados quanto às possíveis sobreposições e similaridades tendo como base a norma ASTM D3414-98 (*reapproved 2011*) *Standard Test Method for Comparison of Waterborne Petroleum Oils by Infrared Spectroscopy* (ASTM, 2011).

O referido ensaio consiste em uma comparação visual, pico a pico, entre os espectros do derrame e aqueles obtidos para as fontes suspeitas, tendo-se o cuidado de se verificar, antes da efetiva análise comparativa, a presença de interferentes que possam prejudicar a interpretação dos espectros. Desse modo, verifica-se a presença de água na amostra pela constatação de um pico largo na região de 3400 cm^{-1} do espectro; assim como, a presença de resíduos de solvente pentano, usado no tratamento das amostras, pela constatação de pequenos picos duplos em 910 e 920 cm^{-1} , referentes a vibração angular do CH_2 , podendo ocorrer também um aumento no pico a 722 cm^{-1} . A verificação de resíduos de $MgSO_4$, usado no tratamento prévio da amostra, é realizada avaliando o possível aumento de pico entre 1075 e 1175 cm^{-1} . Se água, pentano ou $MgSO_4$ estiverem presentes deve-se refazer o tratamento da amostra.

No prosseguimento do ensaio, a análise comparativa verifica se os espectros têm linha de base comparáveis em 1975 cm^{-1} , ou seja, se eles têm valores de absorbância semelhantes. São ainda examinados os picos da região de 1770 a 1685 cm^{-1} para verificar indicações de intemperismo nas amostras. Nessa região do espectro muitos óleos intemperizados mostram um pico bem definido devido às carbonilas formadas no processo oxidativo, particularmente entre 1708 a 1710 cm^{-1} . Admite-se que para um pequeno intervalo de tempo, menores que uma semana, as mudanças devido ao processo de intemperismo são melhores mostradas. Os óleos leves intemperizam mais rapidamente neste período; os óleos mais pesados, mais

lentamente. Examina-se a região de 1350 a 900 cm^{-1} , com especial ênfase nos picos de 1304, 1165 e 1032 cm^{-1} , devido às vibrações associadas a ésteres carbonila, os quais se admite que permaneçam constantes na forma e relativamente no tamanho mesmo quando intemperizados, exceto por um deslocamento na linha de base. Com este deslocamento, a forma do pico tende a alargar na região de 1350 a 900 cm^{-1} , principalmente com óleos mais leves, especialmente na região de 1165 cm^{-1} (ASTM, 2011).

Depois de verificadas as possíveis interferências comparam-se os espectros examinando toda a região do espectro (4000 a 650 cm^{-1}) observando ao mesmo tempo as similaridades de forma (Figura 1).

Caso diferenças óbvias sejam observadas entre os espectros do derrame e da fonte suspeita, este último é designado como não combina (NC). Caso contrário, os espectros são então verificados minuciosamente buscando similaridades na região da impressão digital do óleo (900 a 700 cm^{-1}), a qual apresenta características únicas para cada óleo. Quando o óleo do derrame é o mesmo da fonte suspeita, a forma, a amplitude e a localização dos picos, nesta região, correspondem ponto a ponto.

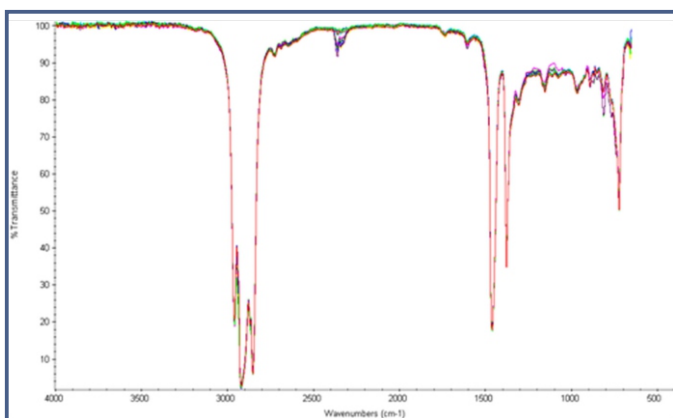


Figura 1. Sobreposição dos espectros de infravermelho para avaliação das similaridades de forma entre as amostras do derrame e das fontes suspeitas

Na sequência são comparados os perfis das formas totais das curvas na região entre 2000 a 650 cm^{-1} . Se houver constatação de diferenças óbvias no

espectro da fonte suspeita esta então é designada como não combina (NC).

A região entre 1685 a 1770 cm^{-1} pode apresentar picos bem definidos devido à carbonilas formadas pelo intemperismo oxidativo. Caso o derrame ou a fonte suspeita não apresentem sinais de intemperismo oxidativo, então quaisquer diferenças no espectro são reais e os óleos não combinam (NC).

Na região de 1350 a 900 cm^{-1} os picos geralmente permanecem constantes na forma e tamanho quando intemperizados, exceto por um deslocamento na linha de base. Levando-se em conta estes fatores, se as curvas são diferentes, os óleos não combinam (NC). Adicionalmente também são verificados os percentuais de similaridade global, fornecidos pelo software do FT-IR, para toda a região de 4000 a 650 cm^{-1} , entre a amostra do derrame e cada uma das fontes suspeitas, onde percentuais abaixo de 90% indicam que os óleos não combinam (NC).

Em resumo, os espectros das fontes suspeitas são classificados, de acordo com a sobreposição obtida contra o espectro do derrame, em uma das categorias abaixo:

Combinam (C) – Os espectros serão considerados como combinam quando tiverem sobreposição com mínimas diferenças permissíveis na região de 900 a 700 cm^{-1} (máximo 1,5 % de transmitância).

Provavelmente Combinam (PC) – Os espectros serão considerados como provavelmente combinam quando ocorrerem diferenças atribuídas à contaminação específica ou mudanças que podem ser atribuídas ao intemperismo (diferenças no intervalo 1,5–5 % de transmitância).

Indeterminado (I) – Os espectros serão considerados como indeterminados quando as diferenças excederem as descritas no item anterior, mas as verificações indicam a mesma origem. O intemperismo, a contaminação ou as diferentes espessuras podem tornar impossível a determinação se são o mesmo óleo ou se são

Isão completamente diferentes.

Não combinam (NC) – Os espectros serão considerados como não combinam quando houver ausência ou presença de picos em apenas um dos espectros, picos reversos, etc.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar da impossibilidade de se poder expressar matematicamente uma relação entre o resultado e as grandezas de entradas envolvidas em um ensaio qualitativo, na realização da estimativa da incerteza de medição associada ao presente ensaio estabeleceu-se o diagrama de causa e efeito descrito na figura 2, o qual permitiu a análise dos componentes mais significativos que contribuem para incerteza do resultado da análise.

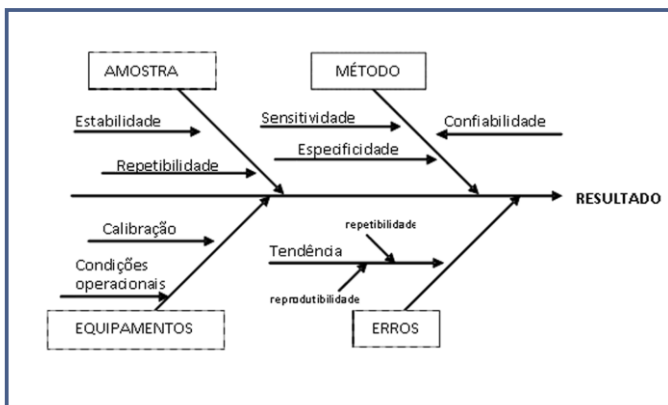


Figura 2. Diagrama de causa e efeito. Componentes contribuintes para incerteza do resultado da análise

A partir do diagrama de causa e efeito e dos resultados obtidos foram calculadas separadamente as incertezas padrão associadas a cada um dos componentes mais significativos:

Incerteza padrão (u_a) associada à amostra

Considerando que o método usado trata-se de um método ASTM já normalizado, não se espera haver contribuição para a incerteza padrão (u_a) relacionada à estabilidade das amostras. Contudo, foi assumida uma contribuição estimada baseada em julgamento, a qual é caracterizada pela distribuição retangular ($\frac{a}{\sqrt{3}}$) com ($a = 1\%$). Obtêm-se para a incerteza padrão (u_a):

$$u_a = \frac{1\%}{\sqrt{3}} = 0,5774\%$$

Incertezas padrão (u_b) associadas ao equipamento

Incerteza padrão (u_{b1}) associada ao erro de leitura: Por tratar-se de um registro eletrônico gerado pelo equipamento de FTIR, considerou-se como erro o menor valor possível de registro. $l_{min} = 0,01\%$, quando da comparação entre amostras. Obtêm-se para a incerteza padrão (u_{b1}):

$$u_{b1} = \frac{0,01\%}{\sqrt{3}} = 0,0058\%$$

Incerteza padrão (u_{b2}) associada à calibração: A calibração do equipamento é baseada em testes que visam checar o funcionamento, pelo software de controle, de seus sistemas eletrônicos, avaliando se o mesmo está operando corretamente e se atende às especificações do fabricante. Foi considerado aqui o erro relacionado à menor medida considerada no teste de calibração, que é de 1% de transmitância. Desta forma, será assumida tal medida como sendo um registro eletrônico com distribuição retangular. Obtêm-se para a incerteza padrão (u_{b2}):

$$u_{b2} = \frac{1\%}{\sqrt{3}} = 0,5774\%$$

Incertezas padrão (u_c) associadas ao Método

As contribuições para as incertezas padrão relacionadas ao emprego do método ficaram associadas às características de especificidade, sensibilidade e confiabilidade alcançadas pelo método.

Dos resultados obtidos nos ensaios realizados pelos técnicos (QUADROS 1 e 2) e daqueles esperados para os ensaios consolidou-se o QUADRO 3.

QUADRO 1
Resultados obtidos da análise comparativa por FTIR – técnico 1.

| Biblioteca: VALIDAÇÃO FER | | Condições Ambientais: Temperatura da sala: 24,5°C | | Umidade relativa: 46% | | | | | | | | |
|---------------------------|------------------------------|---|-------------|----------------------------|------------|-----------------------------|------------|-------------|------------|--------|-----------|----------|
| Técnico 1 | | Energia HATR: 5,83 | | Energia Single Beam: 20,00 | | Energia Verificada: 29,15 % | | | | | | |
| Amostra | Verificação de Interferentes | | | | Comparação | | | | | | Resultado | |
| | Abs. 1975 | Abs. 1377 | 1770 a 1685 | 1350 a 900 | 4000 a 650 | 900 a 700 | 2000 a 600 | 1770 a 1685 | 1350 a 900 | % Sim. | | Classif. |
| DERRAME | -0,001 | 0,458 | NI | PI | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Fonte suspeita nr 1 | -0,002 | 0,458 | NI | PI | C | C | C | C | C | 99,83 | C | C |
| Fonte suspeita nr 2 | 0,001 | 0,460 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,81 | C | C |
| Fonte suspeita nr 3 | -0,002 | 0,446 | NI | PI | NC | NC | NC | NC | NC | 95,46 | NC | NC |
| Fonte suspeita nr 4 | -0,001 | 0,457 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,79 | C | C |
| Fonte suspeita nr 5 | 0,001 | 0,458 | NI | PI | PC | PC | PC | PC | NC | 99,00 | PC | PC |
| Fonte suspeita nr 6 | 0,001 | 0,460 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,76 | C | C |
| Fonte suspeita nr 7 | -0,001 | 0,460 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,79 | C | C |
| Fonte suspeita nr 8 | 0,001 | 0,461 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,79 | C | C |
| Fonte suspeita nr 9 | -0,001 | 0,458 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,79 | C | C |
| Fonte suspeita nr 10 | -0,001 | 0,452 | NI | PI | PC | NC | NC | PC | C | 95,81 | NC | NC |
| Fonte suspeita nr 11 | 0,001 | 0,460 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,80 | C | C |
| Fonte suspeita nr 12 | -0,001 | 0,459 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,70 | C | C |
| Fonte suspeita nr 13 | 0,001 | 0,454 | NI | PI | NC | NC | NC | NC | NC | 94,94 | NC | NC |
| Fonte suspeita nr 14 | 0,002 | 0,458 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,80 | C | C |
| Fonte suspeita nr 15 | -0,001 | 0,458 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,82 | C | C |
| Fonte suspeita nr 16 | 0,002 | 0,460 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,85 | C | C |
| Fonte suspeita nr 17 | 0,002 | 0,451 | NI | PI | NC | NC | NC | NC | NC | 94,39 | NC | NC |
| Fonte suspeita nr 18 | 0,001 | 0,460 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,86 | C | C |
| Fonte suspeita nr 19 | 0,001 | 0,461 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,81 | C | C |
| Fonte suspeita nr 20 | 0,001 | 0,463 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,78 | C | C |
| Fonte suspeita nr 21 | -0,001 | 0,459 | NI | PI | PC | C | C | PC | C | 99,78 | C | C |

OBSERVAÇÕES:
 Abs. 1975: Linha de base; valor da absorbtância em 1975 cm⁻¹.
 Abs. 1377: Espessura; valor da absorbtância em 1377 cm⁻¹.
 1770 a 1685: Indicação de intemperismo: Intemperizado (I), Pouco intemperizado (PI) ou Nenhum intemperismo (NI).
 1350 a 900: Indicação de intemperismo: Intemperizado (I), Pouco intemperizado (PI) ou Nenhum intemperismo (NI).
 4000 a 650: Verificação visual: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 900 a 700: Sobreposição: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 2000 a 650: Verificação visual: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 1685 a 1770: Verificação visual: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 1350 a 900: Verificação visual: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 % Sim.: Percentual de similaridade.
 Classif.: Percentagem e Classificação: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 Res.: Resultado: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).

QUADRO 2
Resultados obtidos da análise comparativa por FTIR – técnico 2.

| Biblioteca: VALIDAÇÃO PED | | Condições Ambientais: Temperatura da sala: 21,0°C | | Umidade relativa: 44% | | | | | | | | |
|---------------------------|------------------------------|---|-------------|----------------------------|------------|--------------------------|------------|-------------|------------|--------|-----------|----------|
| Técnico 2 | | Energia HATR: 6,00 | | Energia Single Beam: 20,00 | | Energia Verificada: 30 % | | | | | | |
| Amostra | Verificação de Interferentes | | | | Comparação | | | | | | Resultado | |
| | Abs. 1975 | Abs. 1377 | 1770 a 1685 | 1350 a 900 | 4000 a 650 | 900 a 700 | 2000 a 600 | 1770 a 1685 | 1350 a 900 | % Sim. | | Classif. |
| DERRAME | 0,002 | 0,631 | NI | NI | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Fonte suspeita nr 1 | 0,000 | 0,626 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,74 | C | C |
| Fonte suspeita nr 2 | 0,000 | 0,626 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,82 | C | C |
| Fonte suspeita nr 3 | 0,000 | 0,617 | NI | NI | PC | NC | NC | NC | NC | 95,03 | NC | NC |
| Fonte suspeita nr 4 | 0,000 | 0,631 | NI | NI | PC | C | C | C | C | 99,79 | C | C |
| Fonte suspeita nr 5 | 0,000 | 0,625 | NI | NI | PC | NC | PC | PC | NC | 98,84 | PC | PC |
| Fonte suspeita nr 6 | 0,001 | 0,633 | NI | NI | PC | C | C | C | C | 99,84 | C | C |
| Fonte suspeita nr 7 | 0,000 | 0,633 | NI | NI | PC | C | C | C | C | 99,79 | C | C |
| Fonte suspeita nr 8 | 0,001 | 0,633 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,77 | C | C |
| Fonte suspeita nr 9 | 0,002 | 0,629 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,77 | C | C |
| Fonte suspeita nr 10 | 0,000 | 0,622 | NI | NI | PC | NC | PC | NC | NC | 95,66 | NC | NC |
| Fonte suspeita nr 11 | 0,000 | 0,624 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,82 | C | C |
| Fonte suspeita nr 12 | 0,000 | 0,630 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,80 | C | C |
| Fonte suspeita nr 13 | 0,000 | 0,624 | NI | NI | PC | NC | NC | NC | NC | 94,28 | NC | NC |
| Fonte suspeita nr 14 | 0,000 | 0,635 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,86 | C | C |
| Fonte suspeita nr 15 | 0,000 | 0,628 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,80 | C | C |
| Fonte suspeita nr 16 | 0,000 | 0,631 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,85 | C | C |
| Fonte suspeita nr 17 | 0,000 | 0,618 | NI | NI | PC | NC | NC | NC | NC | 93,46 | NC | NC |
| Fonte suspeita nr 18 | 0,001 | 0,633 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,76 | C | C |
| Fonte suspeita nr 19 | 0,000 | 0,633 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,81 | C | C |
| Fonte suspeita nr 20 | 0,001 | 0,632 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,83 | C | C |
| Fonte suspeita nr 21 | 0,002 | 0,630 | NI | NI | C | C | C | C | C | 99,84 | C | C |

OBSERVAÇÕES:
 Abs. 1975: Linha de base; valor da absorbtância em 1975 cm⁻¹.
 Abs. 1377: Espessura; valor da absorbtância em 1377 cm⁻¹.
 1770 a 1685: Indicação de intemperismo: Intemperizado (I), Pouco intemperizado (PI) ou Nenhum intemperismo (NI).
 1350 a 900: Indicação de intemperismo: Intemperizado (I), Pouco intemperizado (PI) ou Nenhum intemperismo (NI).
 4000 a 650: Verificação visual: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 900 a 700: Sobreposição: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 2000 a 650: Verificação visual: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 1685 a 1770: Verificação visual: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 1350 a 900: Verificação visual: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 % Sim.: Percentual de similaridade.
 Classif.: Percentagem e Classificação: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).
 Res.: Resultado: Combinam (C); Provavelmente combinam (PC); Indeterminado (I) e Não combinam (NC).

QUADRO 3
Consolidação dos resultados obtidos nos ensaios

| Operadores | Amostras | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | A ₁ | A ₂ | A ₃ | A ₄ | A ₅ | A ₆ | A ₇ | A ₈ | A ₉ | A ₁₀ | A ₁₁ | A ₁₂ | A ₁₃ | A ₁₄ | A ₁₅ | A ₁₆ | A ₁₇ | A ₁₈ | A ₁₉ | A ₂₀ | A ₂₁ |
| I | C | C | NC | C | PC | C | C | C | C | NC | C | C | NC | C | C | C | NC | C | C | C | C |
| II | C | C | NC | C | PC | C | C | C | C | NC | C | C | NC | C | C | C | NC | C | C | C | C |
| -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| Resultado esperado | C | C | I/PC | C | NC | C | C | C | C | I/PC | C | C | NC | C | C | C | NC | C | C | C | C |

Especificidade é a capacidade do método em detectar como verdadeiro negativo aquela amostra reconhecidamente negativa (ELLISON e FEARN, 2005). A Taxa de Especificidade (T_e) é a probabilidade em que o método irá classificar uma amostra ensaiada como negativa, dado que a amostra ensaiada é reconhecidamente negativa.

$$\text{Taxa de especificidade} = \frac{\text{testes.negativos}}{\text{total.de.amostras.reconhecidas.negativas}} =$$

$$(1 - \text{taxa.de.falso.positivo}) = \frac{tp}{tp + fp}$$

Falsos positivos observados: Falso positivo é o resultado tido como positivo para amostra reconhecidamente negativa ou isenta de analito (Erro tipo α), e (tp) é o número total de amostras reconhecidamente positivas (*true positive*).

$$T_e = tp / (tp + fp) \rightarrow T_e = 48 / (48 + 2) = 0,96 \rightarrow T_e = 96 \%$$

Dos dados obtidos durante o processo de validação: Taxa de especificidade = 0,96. Implicando em um valor de incerteza expandida $U_{c1} = (1 - 0,96) \cdot 100\%$

$$U_{c1} = 4\%$$

Considerando uma distribuição normal, a um nível de confiança de 95 %, com fator de abrangência igual a 1,96 (BIPM, 2008); obtêm-se para a incerteza padrão (u_{c1}):

$$u_{c1} = \frac{1 - 0,96}{1,96} = 2,04 \%$$

Sensitividade é a capacidade do método em detectar como verdadeiro positivo amostra reconhecidamente positiva (ELLISON e FEARN, 2005). A Taxa de Sensitividade (T_s) é a probabilidade em que o método irá classificar uma amostra ensaiada como positivo, dado que a amostra ensaiada é reconhecidamente positiva.

$$\text{Taxa de Sensitividade} = \frac{\text{testes.positivos}}{\text{total.de.amostras.reconhecidas.positivas}} = \frac{tp}{tp + fn}$$

$$T_s = tp / (tp + fn) \rightarrow T_s = 48 / (48 + 0) = 1 \rightarrow T_s = 100 \%$$

Dos dados obtidos durante o processo de validação do método, foi considerado aqui não haver incerteza devido à sensibilidade do método (taxa de sensibilidade igual a 100 %). Obtêm-se para a incerteza padrão;

$$u_{c2} = 0.$$

Confiabilidade (*reliability*) – é uma propriedade analítica característica de ensaios qualitativos onde a percentagem de resultados analíticos corretos é correlacionada aos resultados percentuais de falsos positivos (fp) e falsos negativos (fn) obtidos.

$$\text{Confiabilidade}(\%) = 100\% - \%(fp) - \%(fn)$$

Onde, (fn) é o número de análises falso negativo e (tp) é o número total de amostras reconhecidamente positivas (*true positive*).

Falso negativo (fn) é o resultado tido como negativo para amostra reconhecidamente positiva ou contendo analito. (Erro tipo β).

$$f_p = 2 \rightarrow \text{relacionados à amostra nº 5.}$$

$$f_n = 0$$

$$C = 100 \% - f_p(\%) - f_n(\%)$$

$$C = 100 \% - (2 / 48) \cdot 100\% - 0$$

$$C = 100 \% - 4,1667 \%$$

$$C = 95,83 \%$$

Implicando em um valor de incerteza expandida $U_{c3} = (100 - 95,83)\%$

$$U_{c3} = 4,17\%$$

Considerando uma distribuição normal, nível de confiança de 95 %, fator de abrangência igual a 1,96 (BIPM, 2008), obtêm-se para a incerteza padrão (u_{c3}):

$$u_{c3} = 1,96\% \cdot 4,17\% = 2,1276 \%$$

Incerteza padrão (u_d) associada aos erros aleatórios e sistemáticos

Tendência (*Bias*) – É a diferença entre os resultados alcançados e aqueles aceitos como valores de referência. Ela, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos.

A Tendência deve ser avaliada pela análise das variâncias das frequências dos resultados, aplicando o teste qui-quadrado (χ^2) nos valores obtidos pelo uso da Tabela de Contingência conforme modelo geral apresentado na Tabela 1 (MASSART, 1998; PULIDO *et al.* 2003).

Tabela 1
Modelo geral de uma Tabela de Contingência

| Operadores (I) | Frequências de resultados | | | | | total |
|----------------------|---------------------------|----------|----------|----------|---------------------|------------------------|
| | (j=1) | (j=2) | (j=3) | ... | (j=n) | |
| (i=1) | f_{11} | . | . | . | . | $\sum f_{1j} = L_1$ |
| (i=2) | . | f_{22} | . | . | . | . |
| (i=3) | . | . | f_{33} | . | . | . |
| ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... |
| Resultado (esperado) | f_{R1} | f_{R1} | f_{R1} | f_{R1} | f_{R1} | $\sum f_{Rj} = L_R$ |
| ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... |
| (i=n) | . | . | . | . | f_{nn} | $\sum f_{nj} = L_n$ |
| Total | $\sum f_{n1} = C_1$ | . | . | . | $\sum f_{nm} = C_n$ | $\sum \sum f_{nm} = N$ |

$$(\chi^2)_{\text{calculado}} = \sum \sum \frac{(f_{ij} - f_{ij}^*)^2}{f_{ij}^*}$$

$$\text{onde: } f_{ij}^* = \frac{(L_i)(C_j)}{N}$$

O valor de (χ^2) calculado deve ser comparado ao valor crítico tabelado da distribuição qui-quadrado, para um intervalo de confiança 95%, com grau de liberdade $GL = (i-1)(j-1)$, onde i é o número de linhas e, j é o número de colunas obtidos na construção da tabela de contingência.

Dos dados obtidos nos ensaios foi montada a Tabela de Contingência (Tabela 2).

TABELA 2
Tabela de contingência dos ensaios realizados

| | C | I/PC | NC | Σi |
|--------------------|----|------|----|------------|
| I | 16 | 01 | 04 | 21 |
| II | 16 | 01 | 04 | 21 |
| Resultado esperado | 16 | 02 | 03 | 21 |
| Σj | 48 | 04 | 11 | 63 |

Com base nestes valores, obtêm-se:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 3.(16-16)^2/16 + 2.(1-1,3333)^2/1,3333 + 1.(2-1,3333)^2/1,3333 + 2.(4-3,6666)^2/3,6666 + 1.(3-3,6666)^2/3,6666$$

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 0 + 0,1666 + 0,3333 + 0,0606 + 0,1211$$

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 0,6816$$

$$DF = 4 \text{ implica em um } \chi^2_{\text{tabelado}(0,95; 4)} = 0,711$$

$$\chi^2_{\text{calculado}} < \chi^2_{(0,95;4)\text{tabelado}} \rightarrow \text{Tendência aceita}$$

Se o valor de (χ^2) calculado for menor que o valor tabelado, então as variações devidas à reprodutibilidade e repetibilidade, bem como aos erros sistemáticos são aceitáveis para o intervalo de confiança de 95%.

Dos dados obtidos durante o processo $\chi^2 = 0,6816$ e $DF=4$, o que implica, por interpolação na tabela de distribuição chi-quadrado, em um valor para α igual:

$$\alpha = 0,975 + \left\{ (0,6816 - 0,484) \cdot \frac{(0,975 - 0,950)}{(0,484 - 0,711)} \right\} = 0,953.$$

Obtêm-se, para a incerteza padrão (u_d):

$$u_d = \frac{1 - 0,953}{1,96} = 2,36 \%$$

Cálculo da estimativa da incerteza combinada ao método $U_{C(y)}$

$$U_{C(y)} = \sqrt{\sum_{i=1}^n U_i^2(x)}$$

$$U_{C(y)} = \sqrt{(0,5774)^2 + (0,0058)^2 + (0,5774)^2 + (2,04)^2 + (2,1276)^2 + (2,36)^2} = 3,8632$$

$$U_{C(y)} = 3,86 \%$$

Deste modo, considerando um fator de abrangência $K = 2$ para um intervalo de confiança de 95 %, têm-se:

$$U \text{ expandido} = 7,72\%$$

CONCLUSÃO

Deste modo, conforme conceituado pelo GUM e pela ISO 17025, parâmetros normalmente entendidos para situações quantitativas, também podem e devem ser aplicados para a avaliação e

expressão da incerteza associada com processos conceituais e teóricos. No presente trabalho conclui-se que a estimativa para a incerteza de medição relacionada ao método é de 7,72 %. Ou seja, neste caso, considera-se que há 7,72 % de probabilidade de se tomar uma decisão errada referente a um dado considerado como falso positivo ou falso negativo. Ressalta-se aqui que, por se tratar de um ensaio do tipo *screening*, o qual deve ser confirmado posteriormente por um outro método mais fidedigno, como por exemplo, espectrometria de massas, a incerteza estimada foi considerada aceitável para o tipo de ensaio em questão.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as bolsas de estudos concedidas aos pesquisadores, o suporte material e financeiro às seguintes instituições: CNPq, FAPERJ; CNPq; Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira – IEAPM; Laboratório de Síntese e Avaliação de Produtos Estratégicos (LASAPE) – UFRJ.

REFERÊNCIAS

AGUILERA E.; et al. Robustness in qualitative analysis: a practical approach. **Trends Anal. Chem.**, v.25, n.6, p.621-627. 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **Requisitos Gerais para Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração (NBR ISO/IEC 17025)**. 2005, 31p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard Test Method for Comparison of Waterborne Petroleum Oils by Infrared Spectroscopy**. ASTM D3414-98 (Reapproved 2011), 2011, 10p.

BUREAU INTERNATIONAL DES POIDS ET MEASURES - BIPM. **Evaluation of measurement data - guide to the Expression of Uncertainty in Measurement**. JCGM 100:2008. GUM 1995 with minor corrections. 2008. 122p. ISBN 92-67-10188-9

CÁRDENAS S.; VALCÁRCEL M. Analytical features in qualitative analysis. **Trends Anal. Chem.**, v.24, n.6, p.477-487.

ELLISON, S. L.R.; FEARN, T. Characterising the performance of qualitative analytical methods: statistics and terminology. **Trends Anal. Chem.**, v.24, n.6, p.468-476. 2005.

EUROPEAN CO-OPERATION FOR ACCREDITATION - EURACHEM/CITAC guide: **Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement**. 3ªed. 2012. 134 p. ISBN 978-0-948926-30-3

_____ EURACHEM/CITAC guide: **The Expression of Uncertainty in Qualitative Testing**. European Association of National Metrology Institutes. EURAMET LGC/VAM/2003/048. 2003. 22p.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA - INMETRO. **Expressão da incerteza de medição por laboratórios de calibração (NIT-DICLA 021)**. **Rev. N°9**. 2013. 27p.

_____ INMETRO. **Vocabulário internacional de metrologia (VIM). Conceitos fundamentais e gerais e termos associados**. 1ª edição Luso-brasileira. 2012. 81p.

MASSART, D.L.; et al. (Org). **Handbook of chemometrics and qualimetrics**. Vol.20, Part A. 1998. ISBN 978-0-444-89724-4. 886p.

MILMAN B. L.; KONOPELKO L. A. Uncertainty of Qualitative Chemical Analysis: General Methodology and Binary Test Methods. **J. Anal. Chem.**, v.59, n.12. p.1128-1141. 2004.

PULIDO, A.; RUISÁNCHEZ, I.; BOQUÉ, R.; RIUS F.X. Estimating the uncertainty of binary test results to assess their compliance with regulatory limits. **Anal. Chim. Acta**, v.455, p.267–275. 2002.

_____ Uncertainty of results in routine qualitative analysis. **Trends Anal. Chem.**, v.22, n.9, p. 647 - 654, 2003.

RIOS A.; et al. Quality assurance of qualitative analysis in the framework of the European project 'MEQUALAN'. **Accred. Qual. Assur.**, v.8, p.68–77. 2003.

TRULLOLS, E.; RUISANCHEZ, I.; RIUS F.X. Validation of qualitative analytical methods. **Trends Anal. Chem.**, v.23, n.2, p.137-145. 2004.

_____ Validation of qualitative methods of analysis that use control samples. **Trends Anal. Chem.**, v.24, n.6, p. 516-524, 2005.

VÁLCARCEL M.; et al. **Metrology of Qualitative Chemical Analysis**. Report EUR 20605 EN. European Commission. 166p. 2002. ISBN 92-894-5194-7.

A odisseia da síntese do ácido sulfúrico

The odyssey of the sulfuric acid synthesis process

Viviane Galvão Martins e Júlio Carlos Afonso*

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro
*julio@iq.ufrj.br

Submetido em 02/12/2014; Versão revisada em 03/03/2015; Aceito em 15/03/2015

Resumo

A produção e o consumo de ácido sulfúrico são passados em revista neste trabalho. É um insumo que sofre influência da ordem internacional sobre sua demanda e produção, ambas bastante diversificadas. O ácido sulfúrico pode ser obtido industrialmente por duas tecnologias distintas, conhecidas como processo de câmara de chumbo e processo de contato. O primeiro, muito utilizado até meados do século XX, caiu em desuso, devido principalmente à limitação de não permitir produzir ácido com concentração superior a 78% m/m. A tecnologia de contato é atualmente empregada na quase totalidade das instalações industriais. A matéria-prima mais amplamente utilizada é o enxofre elementar, mas o processamento de gás natural ou de petróleo tem contribuído, nos últimos anos, com substancial parcela da oferta mundial desse insumo.

Palavras-chave: ácido sulfúrico; indústria química; síntese industrial

Abstract

The industrial production and consumption of sulfuric acid are reviewed in this work. It is a chemical that influences the international order on its demand and production, both quite diverse. It can be obtained industrially by two different technologies, known as the lead chamber process and contact process. The first one was widely used until the mid-twentieth century, but fell into disuse mainly due to the maximum allowed concentration of the acid (78 wt%). The contact technology is currently used in almost all industrial facilities. The most widely used raw material is elemental sulfur, but the natural gas or oil processing has contributed in recent years, with a substantial portion of the world supply of this element.

Key Words: sulfuric acid; chemical industry; industrial synthesis

INTRODUÇÃO

O ácido sulfúrico (H_2SO_4) é um ácido inorgânico diprótico forte ($K_{a1} > 10^5$; $K_{a2} = 1,2 \times 10^{-2}$), com ponto de fusão $10,37^\circ\text{C}$ e ponto de ebulição 337°C . Seus sais (sulfatos) são solúveis em água, exceto os de cálcio, estrôncio, bário e chumbo. O H_2SO_4 se dissolve em água com desprendimento de muito calor ($20,42\text{ Kcal/mol}$ a 20°C). Por isso, na diluição do ácido, deve-se adicionar, lentamente, este à água e nunca o contrário. O ácido sólido é

composto por finas agulhas monoclinicas. O cristal consiste de camadas de tetraedros SO_4 , sendo a coesão interna assegurada por ligações hidrogênio. Duas das ligações S-O tem distâncias de $142,2\text{ pm}$ e as outras duas, $157,4\text{ pm}$; a ligação O-H tem distância 97 pm (Figura 1). A molécula pode ser formulada como $\text{SO}_2(\text{OH})_2$, em que as distâncias S-O maiores correspondem às ligações S-OH (OHLWEILER, 1971; KING, MOATS e DAVENPORT, 2013).

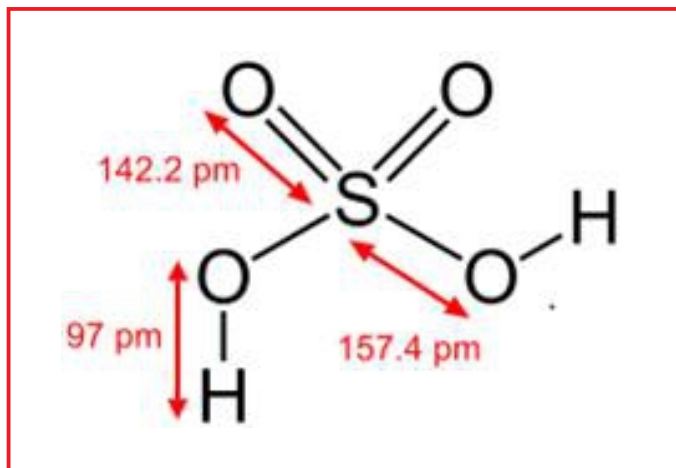


Figura 1. Distâncias entre as ligações na molécula do ácido sulfúrico.

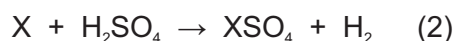
A condutância elétrica do ácido sulfúrico cai progressivamente para concentrações acima de 95% m/m, mas passa a aumentar quando a concentração passa de 100% (SO₃ livre). Isso significa que o ácido sulfúrico anidro comporta-se como um solvente ionizante frente à água e ao trióxido de enxofre (OHLWEILER, 1971; JONES, 1950).

O ácido sulfúrico concentrado é um líquido, oleoso e viscoso, exercendo ação carbonizante sobre muitos compostos orgânicos, como os carboidratos. Por exemplo:



Reações como a (1) explicam porque os carboidratos eram antigamente conhecidos como hidratos de carbono, pois obedeciam à fórmula geral C_x(H₂O)_y (onde x e y são números inteiros iguais ou diferentes). Essa propriedade é aproveitada para justificar o emprego desse ácido como excelente agente dessecante, pois absorve avidamente umidade do ar (SHREVE, 1980).

Em solução aquosa, o ácido sulfúrico reage com a maioria dos metais, em uma reação de deslocamento simples, com a formação de gás hidrogênio e o sulfato do metal correspondente:



O ácido diluído ataca o ferro, o alumínio, o zinco, o manganês e o níquel; já o estanho e o cobre só sofrem ataque na presença do ácido quente e concentrado (OHLWEILER, 1971). A reação com o

estanho forma dióxido de enxofre no lugar do gás hidrogênio:



É importante destacar o comportamento do ácido sulfúrico em relação ao ferro e ao chumbo. O ferro dissolve-se facilmente em ácido diluído ou moderadamente concentrado, mas é muito resistente frente ao ácido de alta concentração, isso em virtude da passivação do metal. Assim, o ácido sulfúrico com mais de 93% m/m de H₂SO₄ pode ser conservado e aquecido em recipientes de ferro fundido; particularmente resistente é o ferro fundido com elevado teor de silício. O ferro maleável e o aço doce não são atacados pelo ácido sulfúrico concentrado à temperatura ordinária, de modo que ele pode ser transportado em recipientes de aço. O chumbo não é atacado mais do que superficialmente por ácido sulfúrico diluído ou moderadamente concentrado, devido à formação de uma camada protetora de sulfato de chumbo (PbSO₄). Todavia, este sal é apreciavelmente solúvel em ácido sulfúrico de alta concentração, formando hidrogenossulfato de chumbo [Pb(HSO₄)₂] (OHLWEILER, 1971; STUART, 1960; KING, MOATS e DAVENPORT, 2013; ZUMDAHL, 2009).

O ácido sulfúrico concentrado se inalado pode causar irritação do nariz e da garganta, fadiga respiratória e edema pulmonar; se ingerido pode causar severas queimaduras na boca, garganta e estômago, levando à morte; em contato com a pele os sintomas mais frequentes são vermelhidão, dor e severas queimaduras (nunca se deve lavar uma região cutânea com água, pois o calor de diluição do ácido agravará as lesões; ao contrário, empregam-se carbonatos ou bicarbonatos sólidos); em contato com os olhos pode causar cegueira (OHSA, 2012).

Esse ácido é amplamente comercializado na forma de diversas soluções aquosas (geralmente com concentração de 98% m/m) ou de soluções de SO₃ em H₂SO₄ (CHENIER, 1987; KING, MOATS e DAVENPORT, 2013).

Estas últimas, conhecidas como “oleum”, são caracterizadas na base da percentagem em massa de SO₃ presente; o oleum a 20% é aquele que, em 100 kg, tem 20 kg de SO₃ e 80 kg de H₂SO₄. Este oleum a 20%, diluído com água para fazer H₂SO₄, forneceria uma massa final de 104,5 kg (SHREVE, 1980). As soluções comuns de H₂SO₄ até 93% m/m são vendidas especificando sua densidade ou os “graus Baumé” (°Bé) que é a denominação utilizada comercialmente para indicar a concentração do ácido sulfúrico; essa grandeza é definida a partir da densidade específica (ρ) a 15,6 °C em relação à água na mesma temperatura da solução aquosa do ácido sulfúrico (CARRÉ, 1918; BAUD, 1951):

$$^{\circ}\text{Bé} = 144,3 (1 - 1/\rho) (4)$$

A escala Baumé só pode ser definida para soluções aquosas de ácido sulfúrico de concentrações inferiores a 93,15% m/m, concentração que corresponde a uma densidade específica máxima de 1,835 g/cm³ (66 °Bé), o que se deve ao fato de que a densidade das soluções acima desta concentração passa a ser decrescente. Outros métodos para determinação da concentração da solução, como condutividade elétrica, titulação e elevação ebulioscópica, são utilizados (Tabela 1) (SHREVE, 1980).

Tabela 1
Concentração do ácido sulfúrico comercial
(a 15,6 °C – SHREVE, 1980; BAUD, 1951)

| Concentração do ácido sulfúrico | °Bé (15,6 °C) | Densidade (15,6 °C) g/cm ³ | Ácido sulfúrico (% m/m) |
|--|---------------|---------------------------------------|-------------------------|
| Ácido de bateria chumbo-ácido | 29 | 1,250 | 33,33 |
| Ácido de câmara de chumbo, ácido para fertilizante (50 °Bé) | 50 | 1,526 | 62,18 |
| Ácido de Glover, ácido a 60 °Bé (processo das câmaras de chumbo) | 60 | 1,706 | 77,67 |
| Óleo de vitriolo, vitriolo, ácido concentrado, ácido a 66 °Bé | 66 | 1,835 | 93,15 |
| Ácido a 98% | - | 1,841 | 98,0 |
| Ácido a 100% | - | 1,835 | 100,0 |
| Oleum a 20%, ácido a 104,5% | - | 1,915 | 104,5 |
| Oleum a 40%, ácido a 109% | - | 1,983 | 109,0 |
| Oleum a 66%, ácido a 114,6% | - | 1,992 | 114,6 |

Por que o ácido sulfúrico é tão importante na sociedade moderna?

No passado, o ácido sulfúrico foi frequentemente usado como um parâmetro para se

aferir o nível de desenvolvimento de um país a partir de seu consumo. Os principais argumentos para emprego tão diversificado e intensivo são o fato de ser um ácido inorgânico bastante forte e de custo competitivo (KING, MOATS e DAVENPORT, 2013).

O ácido sulfúrico participa de inúmeros processos industriais, especialmente em reações de sulfatação e sulfonação (introdução do grupo SO₃H), embora seja pouco frequente sua pertinência ao material acabado, como ocorre na bateria chumbo-ácido (SHREVE, 1980). Sua gama de aplicações é apresentada na Figura 2. Ele é utilizado como agente desidratante, acidificante, hidrolisante, neutralizante, secante, oxidante, absorvente, purificante, lixiviante, catalisador e como reagente ativo em indústrias petroquímicas. Seu principal uso (cerca de 60% da produção mundial) é na produção de ácido fosfórico por via úmida que, por sua vez, é usado na produção de fertilizantes fosfatados (empregam-se ácidos de 53 a 56 °Bé em sua fabricação) e de tripolifosfato de sódio (Na₅P₃O₁₀), usado em detergentes e ainda como agente de flotação, dispersante, emulsificante e estabilizante de solos (H₂SO₄, 2014). Os fertilizantes sulfatados, por exemplo o sulfato de amônio, (NH₄)₂SO₄, são feitos com ácido sulfúrico 60 °Bé. Outro uso importante do ácido sulfúrico 60 °Bé é na fabricação de produtos químicos (12%), como o sulfato de alumínio, Al₂(SO₄)₃.18H₂O. Este sal reage com pequenas quantidades de sabão em fibras de polpa de papel de forma a dar carboxilatos gelatinosos de alumínio, que ajudam na coagulação das fibras para formar o papel propriamente dito. Ele também é usado para produzir hidróxido de alumínio, Al(OH)₃, que é usado em plantas de tratamento de água para filtrar impurezas e melhorar a qualidade da mesma (SHREVE, 1980; CHENIER, 1987; ZUMFAHL, 2009).

Na categoria outras aplicações, deve-se dar destaque para a lixiviação de minerais para obtenção de metais como níquel, cobre, lantanídeos, cobalto e urânio, e a produção de

baterias chumbo-ácido (BUCKINGHAM, OBER e APODACA, 2011).

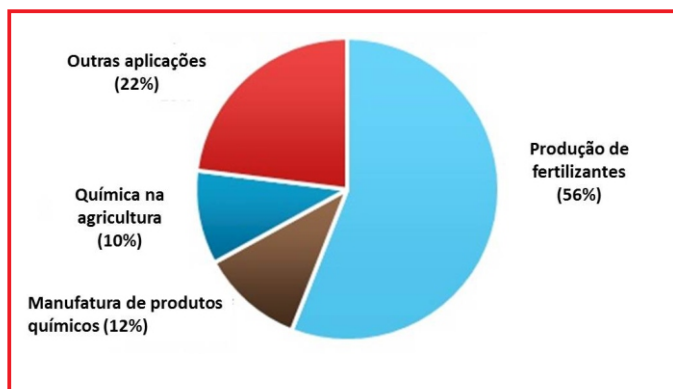


Figura 2: Aplicações do ácido sulfúrico conforme dados de 2013 (adaptado de H₂SO₄, 2014).

No tratamento primário de efluentes alcalinos industriais a correção do pH (neutralização ou equalização) é feita geralmente com ácido sulfúrico concentrado. Valores de pH fora da faixa ideal prejudicam o tratamento secundário (biológicos) desses efluentes, caso seja necessário o emprego desta técnica (KING, MOATS e DAVENPORT, 2013).

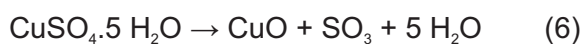
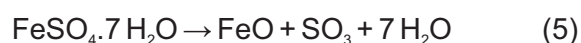
O ácido sulfúrico é o catalisador na conversão de ciclo-hexanona oxima em caprolactama, matéria-prima na fabricação do nylon-6; no refino de petróleo (ácido 66,0 a 66,2 °Bé), é um catalisador da reação do isobutano com isobutileno, que dá iso-octano (2,2,4-trimetilpentano), composto que eleva a octanagem da gasolina; é usado para a fabricação de vários pigmentos inorgânicos, borrachas, adesivos, ácido cítrico (2-hidroxi-1,2,3-propanotriocarboxílico) e lático (2-hidroxiopropanoico) para alimentos, plastificantes, explosivos, silicatos para pastas de dentes, na decapagem do ferro e do aço antes da galvanização e do estanhamento; na refinação e obtenção de metais como cobre e zinco; na eletrodeposição (revestimento de superfícies metálicas; prateação, niquelação, cromagem); na preparação de açúcares e do amido (JONES, 1950; ZUMDAHL, 2009). As baterias de chumbo-ácido, que são compostas de células com placas de chumbo, contêm ácido sulfúrico como eletrólito.

A HISTÓRIA DO ÁCIDO SULFÚRICO ATÉ O SÉCULO XVIII

Primórdios (até o século IX)

A descoberta do ácido sulfúrico é creditada ao alquimista medieval, Abu Musa Jabir ibn Hayyan (721–815), também conhecido pelo nome latino "Geber". Geber é responsável pela introdução da experimentação na alquimia (BAUD, 1951; KHAIRALLAH, 1946; KARPENKO e NORRIS, 2002). No século VIII, Geber notou que a calcinação do alúmen (KAl(SO₄)₂·12H₂O) fornecia um "espírito" que atacava metais.

No século IX, o médico e alquimista persa, Ibn Zakariya al-Razi (Al-Razi, ca. 865- ca. 925) obteve o ácido sulfúrico pela destilação seca de minerais, dentre eles o sulfato de ferro (II) hepta-hidratado, também chamado de vitriolo verde, e o sulfato de cobre (II) penta-hidratado, chamado de vitriolo azul. Quando aquecidos, tais compostos decompõem-se a óxidos de ferro (II) e de cobre (II), respectivamente, liberando água e trióxido de enxofre, que se combinavam de forma a produzir uma solução diluída de ácido sulfúrico (KARPOULO, 1946; KARPENKO e NORRIS, 2002):

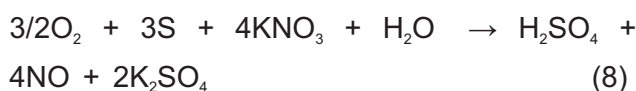


Este método de obtenção popularizou-se pela Europa através das traduções dos tratados e livros islâmicos por parte dos alquimistas europeus; por esta razão o ácido sulfúrico era conhecido pelo nome de óleo de vitriolo ou espírito de vitriolo (KHAIRALLAH, 1946; JONES, 1950).

Tecnologia da Baixa Idade Média

No século XII, Basílio Valentim (ca. 1394-?) obteve o H₂SO₄ pelo aquecimento de sulfato ferroso com areia, ou também de enxofre com o salitre (KNO₃) (CARRÉ, 1918).

No século XVII, o químico Johann Rudolf Glauber (1604-1670) preparou o ácido sulfúrico pela queima de enxofre com salitre (nitrato de potássio) na presença de vapor d'água. Há a oxidação do enxofre a SO_3 que, combinado à água, forma ácido sulfúrico (CARRÉ, 1918; BAUD, 1951):



A introdução das câmaras de chumbo

Em 1746, em Birmingham, o inglês John Roebuck (1718-1794) começou a produzir o ácido sulfúrico pelo método de "Ward" (mesmo método de Glauber) em câmaras recobertas por chumbo, que eram robustas, baratas e podiam ser de maior tamanho que os recipientes de vidros que eram usados anteriormente (SHREVE, 1980). Nesta técnica, havia pouco entendimento do processo, que basicamente requeria ar, água, dióxido de enxofre, nitrato de sódio e um grande recipiente de chumbo. No estágio final do processo ocorria a liberação de nitrogênio na forma de óxido nítrico (NO), necessitando por isso de reposição constante de nitrato. O ácido sulfúrico produzido pelo método de Roebuck tinha uma concentração de 35 a 40% m/m (GARY e HANDWERK, 1984).

SÉCULO XIX: O ÁCIDO SULFÚRICO EMERGE JUNTO COM A INDÚSTRIA QUÍMICA

O processo das câmaras de chumbo

No início do século XIX, os processos contínuos substituíram as operações descontínuas (em batelada). Outro desenvolvimento notável no processo das câmaras de chumbo foi a invenção da torre de Gay-Lussac para a recuperação de óxidos de nitrogênio, em 1827. Mas a adoção na indústria só se deu após a invenção da torre de Glover em 1859, por John Glover (1817-1902): o ácido sulfúrico (que ainda continha nitrato) era gotejado em fluxo descendente contra uma corrente ascendente de

gases. O gás ascendente absorvia parte do óxido nítrico; após a torre, o gás fluía de volta à câmara de chumbo onde o óxido nítrico era reutilizado). A torre de Glover propiciou um método de desnitrificação, sem diluição, do ácido nitroso da torre de Gay-Lussac, servindo de complemento dessa última, elevando assim a concentração do ácido sulfúrico para 78% m/m (SHREVE, 1980; KING, MOATS e DAVENPORT, 2013; CHENIER, 1987). O método das câmaras de chumbo baseia-se na combinação de dióxido de enxofre com oxigênio e água em presença de óxidos de nitrogênio. As reações que ocorrem podem ser assim esquematizadas (OHLWEILER, 1971):



O NO atua como transportador de oxigênio. Começa sendo oxidado pelo oxigênio do ar a NO_2 , que, então, cede uma parte de seu oxigênio ao ácido sulfuroso com formação de ácido sulfúrico e a reconstituição do NO. O ciclo se repete indefinidamente. O processo envolve, pois, a oxidação catalítica do dióxido de enxofre. Uma pequena quantidade de NO poderia atuar indefinidamente como transportador de oxigênio não fosse a ocorrência de reações paralelas, ainda que em escala diminuta, que paulatinamente convertem o NO em produtos (N_2O e mesmo N_2) que não são capazes de absorver oxigênio (OHLWEILER, 1971; SHREVE, 1980).

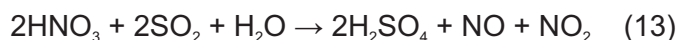
O método das câmaras de chumbo é assim chamado em virtude de as instalações requeridas para o desenvolvimento das reações envolverem grandes câmaras feitas com lâminas de chumbo. As instalações consistem, essencialmente, de três partes: a torre de Glover, duas ou três câmaras de chumbo e a torre de Gay-Lussac (Figura 3) (CHENIER, 1987).

A mistura SO_2 -ar, obtida por meio de pirita

(ou combustão de enxofre), em um combustor, passa sobre um leito contendo nitrato de sódio e ácido sulfúrico. Os gases carregam-se, assim, de ácido nítrico (OHLWEILER, 1971):



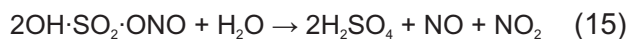
Os gases aquecidos a 300-400 °C penetram na base da torre de Glover, e do alto da mesma escoam uma mistura de ácido sulfúrico diluído proveniente das câmaras de chumbo e de "ácido nitrado" proveniente da torre de Gay-Lussac. Na torre de Glover, a mistura gasosa esfria a 70-90 °C e se carrega com óxidos de nitrogênio cedidos pelo "ácido nitrado"; ao mesmo tempo, o ácido que escoam se concentra. Além disso, verifica-se uma oxidação parcial do dióxido de enxofre com formação de ácido sulfúrico (OHLWEILER, 1971. CHENIER, 1987; SHREVE, 1980):



O ácido sulfúrico recolhido na torre de Glover contém cerca de 80% m/m de H_2SO_4 . A mistura gasosa constituída de SO_2 , O_2 , NO e NO_2 passa, então, para uma série de câmaras de chumbo, nas quais é também injetado vapor d'água ou água finamente pulverizada. As reações que se processam nas câmaras são deveras complexas, nelas formando-se ácido nitrosilsulfúrico:



O ácido nitrosilsulfúrico, em contato com a água, se transforma em ácido sulfúrico com liberação de óxidos de nitrogênio (SHREVE, 1980):



O ácido sulfúrico recolhido no fundo das câmaras de chumbo tem uma concentração de 60-70%. Os gases residuais, contendo NO , NO_2 e O_2 ,

penetram, finalmente, na torre de Gay-Lussac, do alto da qual escoam ácido sulfúrico procedente da torre de Glover. Os óxidos de nitrogênio são absorvidos com formação de ácido nitrosilsulfúrico (OHLWEILER, 1971):

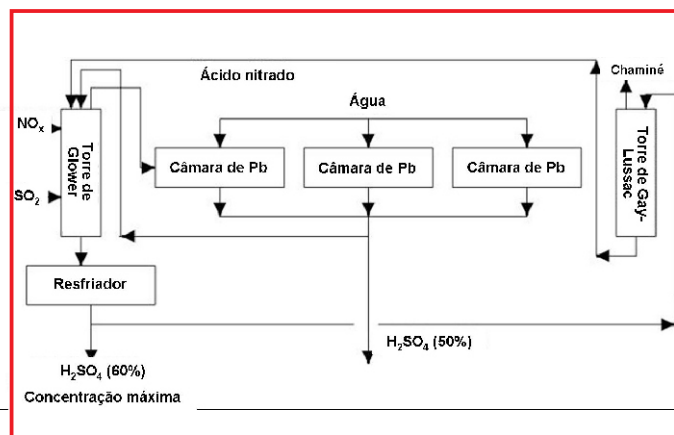


Figura 3: Diagrama do processo da câmara de chumbo, com componentes principais: torre de Glover, câmaras de chumbo e torre de Gay-Lussac. O SO_2 provém do combustor de enxofre.

O ácido das câmaras de chumbo tem de ser concentrado por evaporação, salvo quando transferido para a torre de Glover. Ele pode ser evaporado em cápsulas de chumbo até 78% m/m; para concentração maior, a evaporação deve prosseguir em cápsulas de vidro, porcelana ou quartzo. O ácido sulfúrico das câmaras de chumbo contém numerosas impurezas (óxidos de nitrogênio, óxido de arsênio (III), ácido selenioso, sulfato de chumbo e pequenas quantidades de ferro, cobre, zinco, mercúrio e antimônio) (OHLWEILER, 1971). O processo da câmara de chumbo caiu em desuso, devido principalmente à limitação de não produzir diretamente ácido com concentração superior a 78% m/m, e ao grau de pureza insatisfatório para algumas de suas aplicações, como a síntese de medicamentos, devido às impurezas acima listadas (KING, MOATS e DAVENPORT, 2013).

O processo de contato: concepção e operacionalização

O processo de contato foi descoberto, em 1831,

pelo inglês Peregrine Phillips (1800-1888), cuja patente incluía as características essenciais do moderno processo de contato, ou seja, a passagem de uma mistura de dióxido de enxofre sobre um catalisador, seguida pela absorção do trióxido de enxofre em ácido sulfúrico a 98,5-99,0% m/m. A invenção de Phillips não foi um êxito comercial durante mais de 40 anos, possivelmente porque não havia demanda para os ácidos fumegantes (muito concentrados, acima de 100% m/m), era precário o conhecimento das reações catalisadas em fase gasosa, e ainda era lento o desenvolvimento da tecnologia química envolvendo esse tipo de reação (SHREVE, 1980; CHENIER, 1987). No processo de contato o trióxido de enxofre é obtido por combinação direta de dióxido de enxofre e oxigênio (Figura 4):

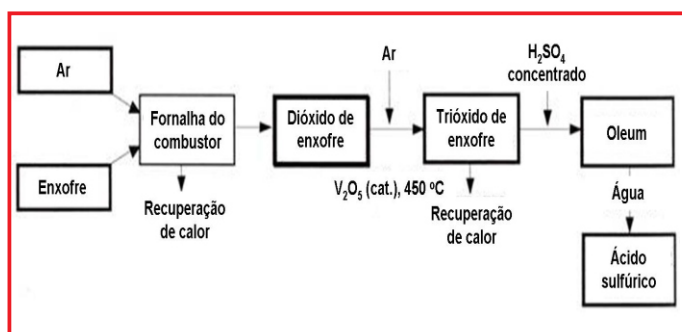
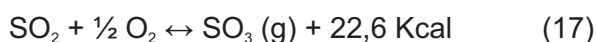


Figura 4: Esquema geral do processo de contato.

Na prática, faz-se passar a mistura dos gases (resultantes da queima de enxofre ou ustulação de pirita ou ainda outros sulfetos minerais) sobre um catalisador (platina, óxido de ferro (III), óxido de vanádio) convenientemente aquecido. A reação é exotérmica, de sorte que o equilíbrio é deslocado para a esquerda com a elevação da temperatura. Porém, a temperaturas baixas a reação se processa lenta demais. A platina assegura uma velocidade satisfatória a 400 °C. O óxido de ferro (III) é eficiente apenas a 600 °C. Ora, tratando-se uma mistura de SO_2 e O_2 com a composição estequiométrica requerida, o rendimento em SO_3 é de 98,6% a 400 °C

e de 76,3% a 600 °C. Portanto, a platina, atuando a uma temperatura mais baixa, garante um rendimento maior do que o óxido de ferro (III); era, por isso, o catalisador antes mais usado no processo de contato. Presentemente, são preferidos os catalisadores a base de pentóxido de vanádio ou sulfato de vanadila(IV). Estes compostos, quando adicionados de certas substâncias promotoras (prata, metais alcalinos) e dispostos sobre suportes apropriados (gel de sílica e zeólitas - aluminossilicatos microporosos), são quase tão eficientes quanto a platina, com a vantagem de serem mais baratos e menos sujeitos a envenenamento por compostos de arsênio (KING, MOATS e DAVENPORTM 2013; ZUMDAHL, 2009). A aplicação da lei da ação das massas fornece:

$$\frac{\rho_{\text{SO}_2} \times \rho_{\text{O}_2}^{1/2}}{\rho_{\text{SO}_3}} = K_p \quad \text{e} \quad - \frac{\rho_{\text{SO}_3}}{\rho_{\text{SO}_2}} = \frac{\rho_{\text{O}_2}^{1/2}}{K_p} \quad (18)$$

isto é, a relação das pressões parciais de SO_3 e SO_2 é proporcional à raiz quadrada da pressão parcial do oxigênio. Portanto, o rendimento de SO_3 pode ser aumentado fazendo passar sobre o catalisador uma mistura gasosa contendo excesso de ar (ZUMDAHL, 2009).

O trióxido de enxofre, assim produzido, não pode ser simplesmente absorvido em água. Os gases que saem do conversor são, principalmente, SO_3 e N_2 . O trióxido de enxofre que se origina na corrente gasosa por esfriamento condensa avidamente a água, resultando em diminutas gotículas que permanecem suspensas no gás em forma de névoa. Estas gotículas são dotadas de fraca mobilidade, de sorte que elas entram em contato com o absorvente com certa dificuldade. A consequência é que se torna quase impossível absorver completamente o trióxido de enxofre depois que este toma a referida forma de névoa. O problema é tecnicamente resolvido mediante a absorção do trióxido de enxofre em ácido sulfúrico a cerca de 98% m/m. Forma-se, momentaneamente,

ácido dissulfúrico e mediante a contínua adição de água a concentração original em ácido sulfúrico é mantida constante (OHLWEILER, 1971):



No comércio, o ácido do processo de contato é vendido como ácido sulfúrico concentrado (98% m/m) e, também, como ácido sulfúrico fumegante. O processo de contato dá um produto puro e não requer operação especial de concentração do ácido (CHENIER, 1987; ZUMDAHL, 2009).

SÉCULO XX: O ÁCIDO SULFÚRICO CONSOLIDA-SE COMO EXPOENTE DA INDÚSTRIA QUÍMICA

Matérias-primas

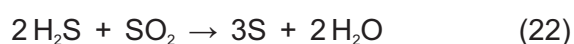
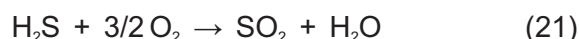
A matéria-prima mais amplamente utilizada para a produção de ácido sulfúrico é o enxofre elementar. O enxofre é um elemento de grande versatilidade, cuja gama de usos vem atravessando séculos (STUART, 1960). Os antigos egípcios (2000 a.C) já o utilizavam para branquear linho e como pigmento para pinturas. Os chineses (500 a.C) empregaram o enxofre como componente da pólvora; os gregos e, posteriormente, os romanos, além de utilizá-lo em cerimônias religiosas de purificação, em lamparinas e em tratamento de pele, ampliaram grandemente seu uso medicinal. Até 1838 o enxofre elementar, obtido de depósitos superficiais de origem vulcânica, tinha na Itália (Sicília) o seu maior produtor, daí gerando um monopólio (JONES, 1950). Como é comum acontecer, o monopólio fez subir os preços em demasia, propiciando a utilização de fontes alternativas (piritas), principalmente na Espanha e em Portugal, ainda na primeira metade do século XIX. Até então, os principais usos do enxofre eram: a fabricação de pólvora, elaboração de branqueadores e manufatura de compostos

medicinais. Com o advento da química industrial moderna, ao longo daquele século, o enxofre passou a ter sua maior aplicação na produção do ácido sulfúrico (ZUMDAHL, 2009; CHENIER, 1987; GARY e HANDWERK, 1984).

O enxofre é um não metal, insolúvel na água, de ponto de fusão 118,6°C, de cor amarela. Pode ser encontrado na natureza na forma livre, apresentando-se cristalizado em prismas ortorrômbicos ou bipiramidais. Sua principal ocorrência é em depósitos vulcânicos, bacias de evaporitos e domos salinos (STUART, 1960).

O processo mais utilizado na extração do enxofre é o processo Frasch (inventado pelo engenheiro químico Herman Frasch (1851-1914)), que consiste em colocar um tubo no solo, até o local onde está o enxofre, conforme Figura 5 (STUART, 1960). Esse tubo é formado por vários canos concêntricos, por onde desce água aquecida, que derrete o enxofre e volta à superfície, auxiliada pela pressão do ar comprimido, trazendo o enxofre, que a seguir se solidifica.

O enxofre produzido pelo processamento de gás natural ou de refinarias de petróleo tem contribuído, nos últimos anos, com substancial parcela da oferta mundial dessa matéria-prima. A maior parte da produção de enxofre brasileiro provém do petróleo. O elemento precisa ser retirado dessas cargas orgânicas, uma vez que ele dificulta o processamento destas, além de gerar muitos poluentes durante o processo, como SO_2 e H_2S . O emprego do processo Claus, patenteado em 1883 por Carl Friedrich Claus (1835-1899), consiste na transformação do H_2S em efluentes gasosos em enxofre elementar, e permite produzir enxofre com grau de pureza superior ao material obtido pelo processo Frasch (SHREVE, 1980; GARY e HANDWERK, 1984):



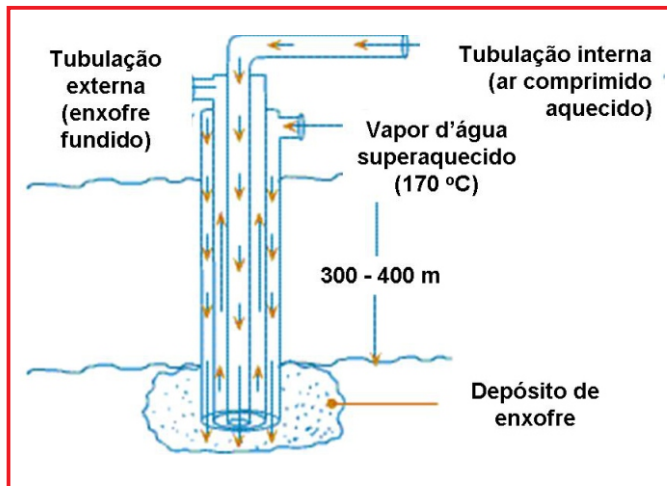


Figura 5: Diagrama esquemático do processo Frasch de mineração do enxofre. Adaptado de Stuart (1960).

Outras fontes de extração provêm das minas de carvão (pirita), xisto pirobetuminoso e fosfogesso (CaSO_4 , produto obtido na produção do ácido fosfórico, pela ação do ácido sulfúrico sobre rochas fosfáticas) (SHREVE, 1980).

Para obtenção do dióxido de enxofre, este sofre um processo de combustão, no qual são utilizados, como agentes comburentes, o oxigênio ou, mais comumente ar previamente submetido a uma operação de secagem com ácido sulfúrico. Tal operação de secagem visa basicamente impedir a formação de ácido sulfuroso ou sulfúrico, mediante reação do SO_2 e do SO_3 com a umidade do ar nas tubulações e equipamentos da unidade não protegidos para suportar a agressividade química desses produtos (SHREVE, 1980; KING, MOATS e DAVENPORT, 2013). A utilização de oxigênio em lugar de ar seco, no processo de combustão do enxofre, proporciona as seguintes vantagens: redução considerável das dimensões dos equipamentos da instalação e diminuição substancial de gases residuais poluentes, com consequente aumento de eficiência global do processo. Em contrapartida a essas vantagens, a utilização de enriquecimento de oxigênio na combustão do enxofre exige o emprego de materiais especiais, e consequentemente mais caros, para a fabricação de equipamentos que os exigidos quando é utilizado ar seco na referida reação de

combustão (ZUMDAHL, 2009). A exigência de materiais mais nobres (alumínio, aço inoxidável e ligas de cobre), na alternativa de uso de oxigênio é devida aos níveis mais elevados de temperatura em que se processa a combustão do enxofre (CHENIER, 1987).

O processo de contato se torna a tecnologia padrão – melhorias operacionais

O processo de contato foi sendo gradualmente modificado para usar a dupla absorção (também denominada dupla catálise), o que eleva os rendimentos e reduz as emissões atmosféricas de SO_2 não convertido (KING, MOATS e DAVENPORT, 2013).

As usinas que queimam enxofre são as mais simples e as mais baratas, pois não requerem a purificação especial dos gases do queimador; não há necessidade de aquecer os fumos de dióxido de enxofre, somente se necessita do resfriamento, de modo que todo o calor desprendido pode ser recuperado na forma de vapor de água em temperatura relativamente elevada.

O processo de contato pode ser dividido na seguinte sequência (ZUMDAHL, 2009):

- Transporte do enxofre para a usina;
- Fusão do enxofre, quando não é recebido fundido, e frequentemente filtração do enxofre fundido para remover traços de cinzas;
- Bombeamento e atomização do enxofre líquido;
- Secagem do ar de combustão;
- Queima do enxofre;
- Recuperação do calor do SO_2 gasoso quente e resfriamento do gás;
- Purificação do SO_2 gasoso por filtração a quente;
- Oxidação do SO_2 a SO_3 em conversores;
- Controle de temperatura com transferência de calor para assegurar elevados rendimentos em SO_3 ;
- Absorção do SO_3 em ácido concentrado, a

a 98,5-99,0%;

- Resfriamento do ácido dos absorvedores;
- Bombeamento do ácido para o topo das torres de absorção.

O excesso de calor de combustão do enxofre é utilizado numa caldeira para produzir o vapor destinado à fusão do enxofre e também para gerar energia em outros pontos da fábrica. Usualmente, o vapor de água é um dos produtos da usina, pois nem todo ele é empregado na fusão do enxofre ou no acionamento dos motores da usina. O vapor de água gerado numa grande usina que queima o enxofre excede normalmente a uma tonelada por tonelada de ácido a 100% produzido. Entretanto, quando o dióxido de enxofre gasoso é proveniente da ustulação de sulfeto mineral, ele tem que ser resfriado para a purificação; por isso, a quantidade de vapor d'água produzida é menor nesse caso.

A partir dos dados de conversão no equilíbrio da Figura 6, a conversão do SO₂ diminui com o aumento de temperatura (SHREVE, 1980; ZUMDAHL, 2009; CHENIER, 1987).

Por essa razão, é desejável efetuar a reação na temperatura a mais baixa possível. A 400 °C, a condição de equilíbrio é muito favorável, sendo quase de 100%, a conversão na velocidade de chegada ao equilíbrio é muito baixa. A velocidade a 500 °C é de 10 a 100 vezes maior que a 400 °C. Uma vez que a reação oposta, SO₃ → SO₂ + ½O₂, não se torna apreciável abaixo de 550 °C, parece razoável operar a reação inicialmente, nessa temperatura, para obter a conversão máxima com um mínimo de catalisador. Nestas circunstâncias, há um conflito entre a conversão no equilíbrio, que é favorável nas temperaturas mais baixas, e as velocidades, que são favoráveis nas temperaturas mais elevadas. O procedimento real, numa usina de contato, aproveita não só as características da velocidade, mas também as do equilíbrio. Os gases passam inicialmente pelo catalisador a cerca de 410-430 °C, e, depois, a temperatura aumenta, adiabaticamente, à medida que a reação avança. A velocidade da

reação cresce com a elevação da temperatura, mas a reação desacelera quando o equilíbrio se aproxima. Praticamente, a reação cessa quando cerca de 60 a 70% do SO₂ foram convertidos, numa temperatura vizinha a 600 °C. Então, o gás, antes de passar sobre o restante do catalisador, é resfriado num trocador de calor, ou numa caldeira, ou por outros meios, até que a temperatura dos gases que passam pela última parcela do catalisador não exceda a 430 °C (SHREVE, 1980; KING, MOATS E DAVENPORT, 2013).

A conversão do SO₂ a SO₃ é uma reação reversível. Removendo-se uma parcela do SO₃, maior quantidade de SO₂ será convertida, para restabelecer o equilíbrio. Este efeito está sendo usado nas usinas modernas de ácido sulfúrico, para aumentar a eficiência global da conversão e diminuir a quantidade de SO₂ expelido na atmosfera (SHREVE, 1980).

Os gases que deixam o conversor, depois de passarem por duas ou três camadas de catalisador, são resfriados e passam por uma torre de absorção intermediária, onde o SO₃ é removido. Os gases que deixam esta torre são depois reaquecidos, e fluem pelas camadas restantes de catalisador no conversor. Os gases são então resfriados e percorrem uma torre de absorção terminal, antes de escaparem para a atmosfera. Desta forma, mais de 99,5% do SO₂ total são convertidos a SO₃ e, posteriormente, a ácido sulfúrico (KING, MOATS e DAVENPORT, 2013).

Deve-se lembrar que, em todas as reações catalíticas, a única função do catalisador é aumentar a velocidade das reações. Um catalisador típico é constituído por terra diatomácea impregnada com mais de 7% m/m de V₂O₅. Em alguns casos, usam-se dois tipos no conversor, um menos ativo, porém mais resistente (resistência mecânica), na primeira passagem do conversor, e um outro mais ativo, porém mais frágil (com aumento de 30% na velocidade de reação), nas passagens subsequentes à primeira. Os catalisadores têm

vida longa, superior a 20 anos, e não sujeitos ao envenenamento, exceto pelo flúor, que reage com a sílica, produzindo SiF_4 , um gás. As conversões são elevadas, até 99,8% m/m, nas usinas de dupla absorção (SHREVE, 1980).

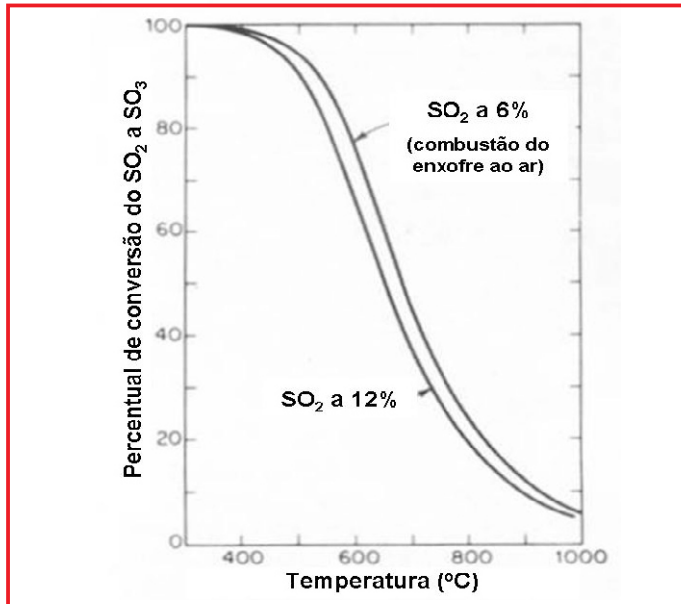


Figura 6: Conversão do SO_2 a SO_3 em função da temperatura Adaptado de Shreve (1980).

O enxofre é normalmente recebido e armazenado na forma líquida. Depois, é bombeado do tanque de depósito e nebulizado na fornalha do combustor. Geralmente, a usina recebe SO_2 a 9% m/m quando se queima o enxofre, mas essa porcentagem pode ser aumentada (ZUMDAHL, 2009).

O SO_2 gasoso do combustor para o processo de contato pode conter, além de particulados, dióxido de carbono, nitrogênio, oxigênio e impurezas, como cloro, arsênio e flúor. As duas últimas só aparecem quando se queima material diverso do enxofre. Para impedir a corrosão provocada pelos gases do queimador, é usual secar o ar de combustão do enxofre, e o de oxidação do SO_2 no combustor. Os gases do combustor, antes da oxidação do SO_2 , são secos. Esta secagem é feita em torres, usualmente com ácido sulfúrico a 93-98% m/m. Boa parte do calor dos gases do combustor de enxofre é removida em caldeiras, para a geração de vapor. Quando se queimam sulfetos, é necessário

acrescentar coletores eficientes de poeira, resfriadores e torres de depuração, além de precipitadores da névoa ácida; isso explica a menor recuperação de vapor d'água em relação ao processo que emprega o enxofre (SHREVE, 1980; ZUMDAHL, 2009; CHENIER, 1987).

Antes de os gases serem conduzidos ao primeiro estágio do conversor, a temperatura é ajustada ao mínimo, em que o catalisador eleva substancialmente a velocidade da reação, usualmente entre 410 e 440 °C. Os gases devem ser resfriados entre os estágios de catálise, para que a taxa de conversão seja elevada. Para isso, pode-se injetar ar frio, ou usar caldeiras, superaquecidas de vapor, ou trocadores de calor multitubulados. Os trocadores de calor, usualmente, são constituídos por grandes cilindros verticais contendo muitos tubos pequenos. Em geral, o SO_3 gasoso circula pelos tubos e o SO_2 gasoso circula em volta dos tubos (SHREVE, 1980; ZUMDAHL, 2009; CHENIER, 1987).

A conversão química do SO_2 a SO_3 está projetada para tornar máxima a taxa de conversão, levando-se em conta que (SHREVE, 1980; ZUMDAHL, 2009; CHENIER, 1987):

- O equilíbrio varia inversamente com a temperatura e de maneira direta com a razão O_2/SO_2 ;
- A velocidade da reação é uma função direta da temperatura;
- A composição e a razão entre a quantidade de catalisador e a quantidade de SO_3 formado afetam a velocidade de conversão ou a cinética da reação;
- A remoção do SO_3 provoca a conversão de maior quantidade de SO_2 .

A adoção dessas condições básicas torna possível atingir uma conversão global elevada, até 98% m/m ou mais, pelo uso de conversores a passes múltiplos, em que, com uma temperatura de entrada entre 410 e 430 °C, a maior parte da conversão (cerca de 75%) é alcançada; a temperatura de saída

do primeiro leito de catálise é de 600 °C ou mais, dependendo, em grande parte, da concentração do SO₂ no gás. O abaixamento sucessivo de temperatura entre os estágios assegura uma conversão global mais elevada. Pela remoção do SO₃ antes de o gás entrar no último estágio do conversor, é possível atingir a uma taxa de conversão de 99,5% (SHREVE, 1980; ZUMDAHL, 2009; CHENIER, 1987).

Embora o conversor seja o “coração” da usina de ácido sulfúrico, existem muitas outras variáveis, que devem ser otimizadas a fim de que o rendimento industrial seja máximo.

Sabe-se que o ácido sulfúrico com a concentração entre 98,5 e 99% m/m é o agente mais eficiente para a absorção do SO₃, possivelmente em virtude de o ácido com esta concentração ter a pressão de vapor mais baixa do que em qualquer outra. Por isso, este ácido é usado no absorvedor final, antes de o gás de descarga ser expelido para a atmosfera. Não se pode usar água, pois há formação de uma névoa ácida, quase impossível de absorver, quando a água entra em contato direto com o trióxido de enxofre. Uma vez que o ácido de absorção fica continuamente mais concentrado, é necessário ter um processo para diluir parte do ácido descarregado do absorvedor final, que deve ser circulado. O ácido de absorção também deve ser resfriado. O ácido de recirculação é diluído pela adição de ácido sulfúrico gasto ou diluído, ou de água, na quantidade necessária, retirando-se do sistema o ácido em excesso, que será comercializado (SHREVE, 1980; OHLWEILER, 1971).

Para remover a umidade do ar ou do SO₂ gasoso com o ácido entre 93 e 98% m/m, ou para absorver o trióxido de enxofre no ácido a 98,5-99,0% m/m, usam-se torres de aço, recheadas, com revestimento em cerâmica à prova de ácido. Para o oleum, a torre em aço não precisa ser revestida (o ferro é passivado). O revestimento em geral, é de porcelana, embora no início do século XX tenham

sido usados quartzo ou coque (SHREVE, 1980; ZUMDAHL, 2009; CHENIER, 1987).

Atualmente, só se permite a instalação de unidade de fabricação de ácido sulfúrico em Zona de Uso Estritamente Industrial - ZEI, ou em outras áreas industriais que tenham as mesmas características da ZEI, a uma distância mínima de 1 km de seus limites externos (KING, MOATS e DAVENPORT, 2013).

Crescimento da produção de ácido sulfúrico

A China é o maior produtor mundial de ácido sulfúrico (desde 2003 superando os Estados Unidos, o líder histórico desde o final do século XIX). Na sequência vêm Rússia, Marrocos, Índia e Japão e Canadá. O parque industrial está concentrado na Ásia (~48%), seguido da América do Norte, África, Europa e América Latina (MERCHANT, 2013). Em 2012, foram produzidas 230,7 milhões de t do produto (MERCHANT, 2013). O Brasil é o oitavo maior produtor (~6 milhões de t); entretanto, nosso país importou o ácido (~0,6 milhão de t), principalmente da Alemanha, Índia e Espanha (H₂SO₄, 2014) para atender à demanda interna. Quase 80% é consumido na fabricação de fertilizantes, dado coerente com o fato de nosso país ser um grande produtor de grãos. A Figura 7 apresenta os dados de produção do ácido entre 1970 e 2011.

A otimização e ampliação da capacidade dos poços de fusão (Método Frasch), redução nas perdas de enxofre nas áreas de estocagem e drenagem dos filtros, e o emprego dos processos de dupla absorção, têm levado a um aumento na capacidade das unidades. A produção mundial aumentou a uma taxa média de aproximadamente 4% ao ano entre 2001 e 2011 (H₂SO₄, 2012).

A figura 8 ilustra um histórico da produção norte-americana do H₂SO₄ nas primeiras sete décadas do século XX (US BUREAU OF THE CENSOS, 1971). Em comparação com a produção mundial hoje, em 1900 esse montante alcançava

apenas 4,2 milhões de toneladas, com cerca de 30% produzidas nos Estados Unidos. Essa figura ilustra como a produção do ácido sulfúrico naquele país se mostrou fortemente relacionada a eventos históricos em escala mundial. A produção, inicialmente em expansão principalmente devido ao fabrico de fertilizantes, teve um aumento adicional devido à 1ª Guerra Mundial, mostrando pequena queda após 1918 e uma retomada a partir de 1921. O “crash” da bolsa de Nova Iorque em outubro de 1929 fez estagnar a produção do ácido por quase uma década. A partir da 2ª Guerra Mundial, a produção aumentou consideravelmente; mesmo após o fim do conflito, o ácido continuou a ser produzido em quantidades crescentes, não somente para suprir as áreas devastadas pela guerra, mas também para dar conta do perfil mais diversificado de consumo e aplicações. A partir da saturação do mercado no fim da década de 1960, seguido das crises de energia do início dos anos 1970, a produção voltou a estagnar, somente sendo retomada a partir de 1980. Nessa figura, apresentam-se também as curvas para outros dois produtos industriais, a soda cáustica (NaOH) e a amônia (NH₃). Além de apresentarem as mesmas tendências gerais vistas acima para o ácido sulfúrico, observa-se que a produção desses insumos é bem inferior à do ácido.

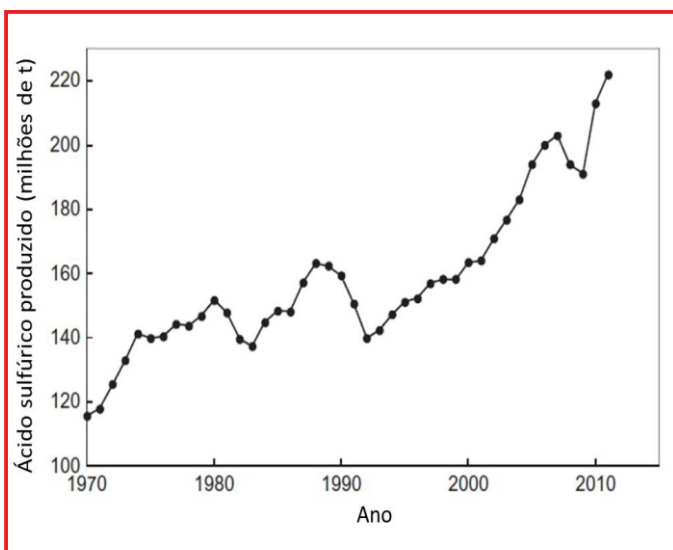


Figura 7: Produção mundial de ácido sulfúrico (1970-2011) (adaptado de BUCKINGHAM, OBER e APODACA, 2011).

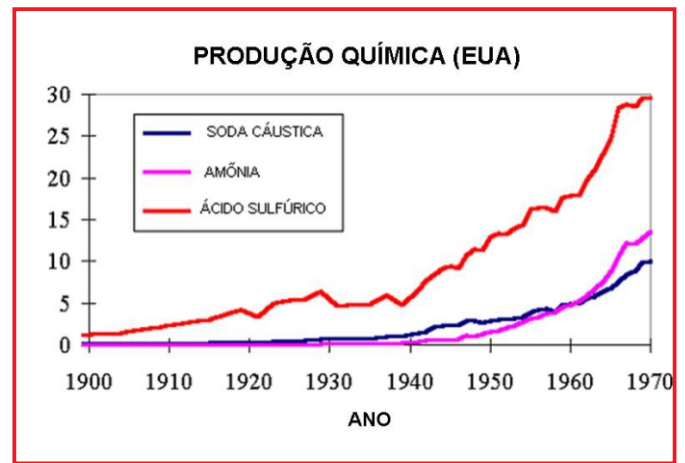


Figura 8: Histórico da produção de H₂SO₄ nos EUA de 1900 a 1970. Adaptada de US Bureau of the Census (1971) (em milhões de toneladas curtas – 1 tonelada curta = 0,907 toneladas métricas).

No início do século XXI, uma das principais linhas evolutivas da síntese industrial do ácido sulfúrico envolve a concepção de novos tipos de catalisadores (óxidos multicomponentes), mais seletivos. A disponibilidade hoje de novas técnicas de avaliação estrutural de catalisadores e os avanços nos estudos mecanísticos de catálise homogênea e heterogênea contribuem para um redesenho de processos catalíticos industriais já bem estabelecidos, como as sínteses da amônia, do ácido sulfúrico e do ácido nítrico, entre outros (HAGEN, 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de ácido sulfúrico deve continuar aumentando no início deste século, principalmente na China, devido às suas grandes reservas de enxofre e às inúmeras indústrias de ácido sulfúrico lá instaladas (H₂SO₄, 2012).

A larga aplicação do ácido sulfúrico resulta em mercado crescente para o enxofre, o que sempre incentivou sua recuperação de diversas fontes. Saliente-se, também, que o incentivo à recuperação do enxofre contido em efluentes gasosos recebeu forte incremento das legislações ambientais internacionais nos últimos anos, as quais penalizam os emissores de SO₂ em razão das chuvas ácidas. Tornou-se mais econômico às indústrias o

tratamento dos gases sulfurosos do que o pagamento das multas acarretadas pelo seu lançamento à atmosfera. Da mesma forma, o reaproveitamento do ácido usado em processos como alquilação, sulfonação e sulfatação vem ganhando espaço para evitar tanto problemas ambientais como de ordem econômica (preço e suprimento). Tendo em conta a dificuldade de descobrir novas fontes primárias de obtenção de enxofre, seu consumo crescente e seu elevado valor de mercado por ser um insumo energético, é de supor que os seus preços internacionais tendam a se manter estáveis (US\$ 100-120/t), ou mesmo subir nos próximos anos (H₂SO₄, 2012; KING, MOATS e DAVENPORT, 2013).

REFERÊNCIAS

- BAUD, P. **Traité de Chimie Industrielle**. Paris: Masson & Cie, p. 19-95, 1951.
- BUCKINGHAM, D. A. ; OBER, J. A. ; APODACA, L. E. **1900-2010 Sulfur Statistics**. Washington: The United States Geological Survey, 2011.
- CARRÉ, P. **Précis de Chimie Industrielle**. Paris: J. B. Baillière, p. 72-89, 1918.
- CHENIER, P. J. **Survey of Industrial Chemistry**. Nova Iorque: John Wiley & Sons, p. 45-57. 1987.
- GARY J. H.; HANDWERK, G. E. **Petroleum Refining Technology and Economics**, 2nd ed. Nova Iorque: Marcel Dekker, Inc., 1984.
- HAGEN, J. **Industrial Catalysis, A Practical Approach**, 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2013, cap. 1.
- H₂SO₄. **CONSULTORA DE ÁCIDO SULFÚRICO**, 2012. Disponível em <www.h2so4.com.br>. Acesso em: 10 out. 2014.
- JONES, E. M. Chamber Process Manufacture of Sulfuric Acid. **Industrial and Engineering Chemistry**, Washington, v. 42, n. 11, p. 2208–2210, 1950.
- KARPENKO. W.; NORRIS, J. A. Vitriol in the History of Chemistry. **Chemiké Listy**, vol. 96, p. 997-1005, 2002.
- KHAIRALLAH, A. A. **Outline of Arabic Contributions to Medicine**. Beirute: The American Press, cap. 10, 1946.
- KING, M. ; MOATS, M. ; DAVENPORT, W. G. I. **Sulfuric Acid Manufacture**. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2013.
- MERCHANT. **Global Sulfuric Acid Production**. Londres: Merchant Research & Consulting, 2013.
- OHLWEILER, O A. **Química Inorgânica**. vol.1. São Paulo: Editora Edgard Blücher, p. 115-118 e 126-129, 1971.
- OHSA. **SULFURIC ACID**. Disponível em: <https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_268700.html>. Acesso em: 11 out. 2014.
- SHREVE, R. N. **Indústrias de Processos Químicos**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, p. 261-279 e 676-708, 1980.
- STUART, B. B. The Stone That Burns: The Story of the Frasch Sulphur Industry by Williams Haynes. **Journal of Economic History**, Londres, v. 20, n. 2, p. 326–327. 1960.
- US BUREAU of the Census. **Historical Statistics from Colonial Times to 1970**. Nova Iorque: The US Bureau of the Census, 1971.
- ZUMDAHL, S. S. **Chemical Principles**. 6th ed. Boston: Houghton Mifflin Company, 2009.

Utilização de resíduos gordurosos para produção de biodiesel via enzimática

Use of fatty wastes for biodiesel production via enzymatic process

***Ernandes Benedito Pereira, Cleiton Barcot Tintor, Daniela Battaglia Hirata**

Universidade Federal de Alfenas
*ernandes.pereira@unifal-mg.edu.br

Submetido em 22/05/2015; Versão revisada em 09/08/2015; Aceito em 13/08/2015

Resumo

As lipases atuam na hidrólise de triacilgliceróis, liberando ácidos graxos e glicerol. Em meio orgânico são enzimas capazes de catalisar reações de esterificação, interesterificação e transesterificação, sendo que seu uso somente é viável se associada à estabilização em suportes inertes. A eficiência de imobilização depende de fatores diversos como o suporte e tipo de imobilização. O suporte selecionado foi o polihidroxibutirato (PHB) para imobilização da lipase de *Pseudomonas fluorescens* (Lipase AK) e aplicadas na produção de biodiesel. A atividade catalítica da lipase imobilizada por adsorção física, foi de 413,76 U/g, utilizando um carregamento de 30 mg de proteína durante a imobilização. A reação de transesterificação foi com óleo residual, conduzidas em *shaker*, usando 20 g do meio reacional, em proporção molar de 1:9 (óleo:etanol) e 2 g de derivado, à 45°C, em diversos tempos (de zero a 96 h) para posterior dosagem dos ésteres etílicos formados. A análise por cromatografia gasosa apresentou uma porcentagem de 73,5% em éster etílico num período de 48h, bastante similar ao tempo de 96 h (74,4%).

Palavras-chave: Lipase AK, Resíduo gorduroso, Polihidroxibutirato (PHB), Biodiesel.

Abstract

Lipases act on the hydrolysis of triacylglycerols, releasing fatty acids and glycerol. In organic medium are enzymes capable of catalyzing esterification reactions, transesterification and interesterification, and its use is only feasible if the associated stabilization inert carriers. The efficiency of immobilization depends on several factors such as the characteristics of support and the type of immobilization. The main objective of this work was the production of esters of fatty acids via ethyl route using microbial lipase from *Pseudomonas fluorescens* (Lipase AK), immobilized on support polyhydroxybutyrate (PHB). The catalytic activity of lipase immobilized by physical adsorption was 413.76 U/g, using a loading of 30 mg protein during immobilization. The transesterification reaction with residual oil was conducted in a shaker using 20 g of the reaction medium, in the molar ratio 1: 9 (oil-ethanol) using 2 g of immobilized, at 45°C for different times (from zero to 96 h) for further dosage of the ethyl esters formed. The analysis by gas chromatography showed a percentage of 73.5 % of ethyl ester a 48h period, very similar to the time of 96 h (74.4%).

Keywords: Lipase AK, Waste oil, Polyhydroxybutyrate (PHB), Biodiesel.

INTRODUÇÃO

A busca por combustíveis alternativos para motores a diesel está cada vez mais acirrada devido à diminuição das reservas de petróleo e as consequências ambientais da exaustão de gases dos motores abastecidos com combustíveis petroquímicos (RODRIGUES, 2009).

A queima dos combustíveis fósseis provoca emissões de dióxido e monóxido de carbono, óxidos de nitrogênio (NOx) e compostos sulfurados, gases que estão largamente associados a problemas como efeito estufa e chuva ácida, além de ser o petróleo proveniente de fontes não renováveis (WUST, 2004).

Desta forma, o biodiesel surge como alternativa, uma vez que é um combustível de origem vegetal, economicamente mais vantajoso e que tem vantagens como: ser renovável, não contribuir para o efeito estufa e possuir um nível de biodegradabilidade maior que o diesel. O biodiesel apresenta outras vantagens ambientais, como a do reaproveitamento de resíduos, para a produção de energia, permitindo a economia dos recursos naturais não renováveis, seja diretamente pelo não uso das fontes energéticas, ou indiretamente, pela não disposição destes resíduos nos esgotos, rios, solo, dentre outros (WUST, 2004).

A produção de biodiesel utilizando óleos vegetais como matéria prima (ou seus triglicerídeos) têm se tornado alvo em diversas pesquisas, sendo que os esforços concentram-se em transformar estes óleos em ésteres de comportamento similar ao diesel, ou seja, com menor viscosidade e alta volatilidade, quando comparado ao óleo empregado (RODRIGUES, 2009).

A reação química capaz de modificar os óleos em biodiesel é denominada transesterificação. A reação consiste na quebra das cadeias longas dos óleos, para que se ligue a um álcool de cadeia curta (usualmente metanol), mediado pela presença de um catalisador, produzindo ésteres alquílicos (SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B, 2006.).

Estes ésteres apresentam características equiparadas as do diesel tradicional e, sendo assim solucionam os problemas encontrados para a aplicação de óleos vegetais como combustíveis (RODRIGUES, 2009).

A reação de transesterificação admite o uso de uma grande gama de óleos ou gorduras capazes de serem utilizados como substrato na produção de biocombustível. Este substrato, para que possa ser empregado com capacidade de substituir parcial ou totalmente o diesel de petróleo, deve atender três aspectos fundamentais: a) Viabilidade técnica e econômica para a produção e obtenção do óleo ou gordura em escala suficiente para atender à demanda pelo biocombustível; b) Viabilidade técnica e econômica para transformá-lo em biocombustível; e, c) Garantias de que a qualidade do biocombustível produzido seja compatível com o seu uso em motores veiculares, estacionários, ou qualquer outro uso como forma de energia.

Se um desses três aspectos não for atingido, então não se deve utilizar a matéria prima pesquisada para programas bioenergéticos (SUAREZ, 2009).

A fim de que se tenha atendido os aspectos citados, uma alternativa é o uso do resíduo gorduroso como matéria prima reacional, mediado por um biocatalisador, os quais em conjunto eliminam as desvantagens da alcalinização da reação de transesterificação utilizada para a produção de biodiesel em escala industrial.

Como biocatalisador, a utilização de enzimas apresenta vantagens como: alta seletividade e condições brandas de operação, no entanto a desvantagem crítica do elevado custo tem limitado seu emprego nas reações de produção de biodiesel em escala industrial, em especial enzimas do tipo lipases. Desta forma, a proposta de reuso das lipases em diversas reações de transesterificação reduz o custo de produção e, por consequência, o custo de produto obtido. Para que se faça este reuso, a alternativa verificada foi a de fazer a

imobilização da enzima em suportes inertes.

O interesse em trabalhar com o resíduo gorduroso de fritura é devido a ser um material de produção contínua, seja nos pequenos centros ou polos industriais e que, por vezes, apresenta dificuldade de descarte e/ou comprometimento de diversos recursos naturais. Quanto ao etanol, foi selecionado devido à crescente disponibilidade do produto no mercado nacional (VEIGA FILHO, 2008), além de ser um produto obtido de fontes renováveis e com eficácia comprovada para a reação química de produção de biodiesel.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

O substrato utilizado para a reação de transesterificação foi o resíduo gorduroso de fritura, obtido no Restaurante Universitário da UNIFAL-MG, campus sede, Alfenas, no total de uma única amostra com volume de dois litros. A enzima utilizada foi a Lipase AK, da empresa Sigma Aldrich Co. (USA) na forma de pó liofilizado, de origem microbiana extraída do fungo *Pseudomonas fluorescens*. O suporte inerte Polihidroxibutirato (PHB) utilizado também é comercializado na forma de pó, pela empresa Sigma Aldrich Co. (USA). Como substrato padrão na caracterização da lipase livre e imobilizada, utilizou-se o azeite de oliva extra virgem, da marca Carbonell, adquirido no comércio local.

Caracterização da matéria prima

De acordo com Martins (2006), antes de iniciar o processo por via enzimática, é necessária uma preparação prévia da matéria prima para que esta tenha o mínimo de partículas, acidez e umidade, tais como, filtração, centrifugação, lavagem da amostra com soluções tampão, e desumidificação são necessárias para que a reação tenha o melhor rendimento.

Em seguida os procedimentos utilizados

para a determinação do teor de ácidos graxos foi baseado na teoria da titulação ácido-base e adaptado a partir de metodologia oficial da “American Oil Chemist's Society” – AOCS (AOCS, 1998 apud DA SILVA, 2010). A determinação do índice de acidez total foi baseado na metodologia de MORETTO & FETT (1998).

O índice de iodo foi determinado pelo método de Wijs de acordo com adaptação das normas da “American Oil Chemist's Society” - AOCS (AOCS, 1998 apud DA SILVA, 2010).

O índice de saponificação da matéria prima foi determinado de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

A determinação do índice de peróxido determina o grau de deterioração da matéria, dada sua condição inicial, quando obtida ou purificada. O índice de peróxido foi determinado de acordo com o método oficial Cd 8b-90 da American Oil Chemist's Society - AOCS (2004).

A determinação de umidade foi efetuada com base no método de perdas por dessecação em estufa (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

As densidades foram medidas em temperatura ambiente (25°C ± 5°C) e para tal, as amostras foram pesadas em picnômetros de 50 mL, que já haviam tido aferição prévia do volume, com água destilada. O procedimento de medida para todas as amostras foi realizado em triplicata, obtendo um valor de densidade média medida e seu respectivo desvio padrão (σ). Nesta etapa experimental, a amostra de gordura residual foi avaliada segundo os diferentes tratamentos: a) gordura residual sem filtrar (amostra utilizada após o período de repouso de 24 h); b) gordura residual filtrada (quando a amostra, após período de repouso de 24 h, foi submetida a filtração a vácuo); c) gordura residual lavada com solução tampão (quando a amostra, após período de repouso de 24 h, foi submetida a lavagem com uso de solução tampão NaOH, (0,1 M e pH 7,0) e, d) após repouso de 30 min, separada do sobrenadante, com uso de balão

de decantação) e comparado com o óleo de soja puro (produto comercial, obtido no comércio local).

Caracterização do biocatalisador

Para a caracterização da Lipase AK, algumas análises foram necessárias, sendo elas: imobilização da lipase por adsorção física, **determinação da concentração de proteína**, influencia do pH e temperatura de reação além da determinação da atividade hidrolítica de acordo com os diferentes carregamentos da Lipase AK imobilizada em PHB.

Imobilização da lipase por adsorção física

O modo de preparo da imobilização da Lipase AK foi selecionado com base nos resultados satisfatórios obtidos na síntese de biodiesel a partir do óleo de café e óleo de soja, conforme pesquisado e desenvolvido por Scamilhe et al. (2012), onde inicialmente o suporte é ativado com etanol absoluto, em shaker e lavado com água destilada.

A etapa seguinte é a da adição da Lipase AK, em solução tampão de fosfato de sódio (0,01 M e pH 7,0), a qual passa pelo procedimento de imobilização juntamente com o PHB, em agitação por 12 horas, a 125 rpm, em temperatura ambiente (25° C 5° C).

Após esta etapa, o derivado imobilizado foi filtrado com bomba a vácuo, lavado com água destilada, e acondicionado em embalagem aberta para secagem. A fixação da lipase ao suporte foi considerada completa após o tempo de permanência de 48 h de condições estáticas a 4° C.

O sobrenadante foi guardado, após a primeira filtração, com a finalidade de determinar a atividade hidrolítica.

Determinação da atividade hidrolítica

Em todas as análises, foi avaliada a atividade enzimática da lipase imobilizada, a qual era obtida pelo método de hidrólise do azeite de oliva, conforme metodologia modificada por Soares et al. (1999),

onde verifica-se ácidos graxos liberados com titulação com solução de NaOH (0,02M), utilizando fenolftaleína como indicador.

Determinação da Concentração de Proteína

Foi dosado a quantidade de proteína na lipase comercial da Sigma Aldrich Co. (Lipase AK) e no sobrenadante resultante da imobilização, utilizando o método de Bradford (BRADFORD, 1976), o qual se baseia na ligação do corante Coomassie Brilliant Blue G-250 à proteína.

Análise dos fatores que interferem na produção de biodiesel

Avaliação do pH e temperatura

As atividades das lipases livre e imobilizada foram estudadas utilizando-se a reação de hidrólise do azeite de oliva, adaptado de SOARES *et al.* (1999) na faixa de pH entre 5,0 a 9,0 com aumento de 0,5 variando o pH da solução tampão de fosfato de sódio (0,1 M) utilizado na temperatura de 37°C, durante período de 5 minutos.

Utilizando a mesma metodologia, também foi verificada a influência da temperatura na atividade das lipases livre e imobilizada, nas temperaturas de 30, 37 a 70°C, com avaliação em intervalos de 5°C, usando solução tampão fosfato de sódio (0,1M) para controle de pH 7,0 (SOARES *et al.*, 1999), no tempo de 5 minutos.

Reação de transesterificação

As reações de síntese de biodiesel a partir do resíduo gorduroso foram realizadas em recipientes fechados, utilizando agitação mecânica (200 rpm), na temperatura de 45°C e razão molar fixa 1:9 resíduo gorduroso/ etanol. As reações foram incubadas com a lipase imobilizada em proporção 10% em relação à massa total dos reagentes e conduzidas por determinados períodos de tempo (12, 24, 48, 72 e 96h), com retirada dos recipientes amostrais para purificação e posterior dosagem dos ésteres etílicos formados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização da matéria prima

Independente do tipo de catalisador selecionado, a qualidade da matéria-prima lipídica na reação de transesterificação é de fundamental importância, tendo em vista que inibidores catalíticos podem reduzir o rendimento da reação. O resíduo gorduroso oriundo de fritura foi caracterizado quanto aos teores de interesse para controle de qualidade, incluindo teor de ácidos graxos livres, índice de acidez, iodo, peróxido e saponificação, teor de umidade, densidade e viscosidade. Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1
Caracterização da matéria prima em comparação a valores de referência ou da literatura.

| Parâmetro Avaliado | Valor Obtido | Desvio padrão | Valores de Referência | Valores da Literatura |
|-------------------------------------|--------------|---------------|------------------------|------------------------------|
| Teor de Ácidos Graxos Livres(mg/ g) | 0,79 | 0,25 | < 0,6 ^a | 0,13 – 4,57 ^b |
| Índice de Acidez Total (mg/ g) | 0,39 | 0,01 | < 0,5 ^c | 0,14 – 5,77 ^d |
| Índice de Iodo (g/100 g) | 26,83 | 0,58 | 120 – 143 ^e | 119,35 - 121,82 ^f |
| Índice de Saponificação (mg/g) | 106,88 | --- | 189 – 195 ^e | --- |
| Índice de Peróxido (meq/Kg) | 8,79 | 0,53 | < 10 ^e | --- |
| Viscosidade (cP) | 23,49 | --- | --- | --- |
| Teor de Umidade (%) | 0,10 | 0,01 | --- | 0,11 ^b |
| Densidade (g/mL) | 0,92 | --- | --- | --- |

^a BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, Instrução Normativa MAPA nº 49/06 (2006); ^b Arruda Botelho (2012); ^c BRASIL, Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP, Resolução ANP nº 14/12 (2012); ^d Silva (2010); ^e BRASIL, Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA, Resolução RDC nº 452/99 (1999); ^f Souza (2010)

Densidade

Foram usados os produtos dos diferentes tratamentos no resíduo de fritura para determinação média da densidade, tais como, óleo sem filtrar; óleo filtrado; óleo lavado com tampão e comparado com o óleo de soja puro. Foi observado que nenhuma das amostras testadas apresentou alteração na densidade, sendo que todas apresentaram uma média de 0,921 g/mL.

Caracterização do biocatalisador

Influência de Diferentes Carregamentos de Lipase AK Imobilizada em PHB na Atividade Hidrolítica

No presente estudo, as concentrações avaliadas foram 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 30,0 e 40,0 mg/g

de suporte. A metodologia escolhida para comprovação do melhor carregamento foi pela avaliação do sobrenadante, no qual se obtém a curva de rendimento da atividade hidrolítica teórica. Nesta análise, empregando o método de hidrólise do azeite de oliva (SOARES et al. 1999) foram trabalhadas duas análises: uma com o sobrenadante (tampão e enzima) anterior à imobilização, avaliando a enzima livre em solução e outra analisando o sobrenadante após a retirada do derivado imobilizado, verificando a capacidade de retenção do PHB e capacidade catalítica da enzima. Esses resultados são apresentados na Tabela 2 e Figura 1.

Este método foi proposto para a obtenção de dados complementares: a obtenção de uma atividade hidrolítica teórica, diferente da atividade hidrolítica real, obtida a partir do PHB com a lipase imobilizada, permite inferências diversas a respeito do método de reuso da lipase e sua eficácia. Além disso, foi uma metodologia que permitiu uma melhor utilização dos reagentes (como os derivados imobilizados em diferentes carregamentos), bem como propostas de reuso do sobrenadante após imobilização.

Tabela 2
Atividade hidrolíticas inicial e final, na análise do sobrenadante (proteína livre), em função dos diferentes carregamentos de proteína para imobilização em PHB.

| Carregamento (mg/g) | Ativ. Hidrolítica Inicial (U/g) | Ativ. Hidrolítica Final (U/g) | Ativ. Hidrolítica Teórica (U/g) |
|---------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 2,50 | 413,47 | 80,65 | 332,82 |
| 5,00 | 917,80 | 291,03 | 626,77 |
| 10,00 | 1798,68 | 839,58 | 959,10 |
| 15,00 | 2123,63 | 1119,94 | 1003,70 |
| 30,00 | 4446,89 | 3335,47 | 1111,42 |
| 40,00 | 5768,86 | 4636,07 | 1132,79 |

Analisando a Tabela 2, observou-se que o melhor carregamento foi o de 30 mg, uma vez que, o carregamento de 40 mg, o rendimento da atividade hidrolítica teórica (U/g) foi considerado praticamente igual, conforme mostrado na Figura 1.

Utilizando o suporte PHB, somente na concentração de 30 mg de proteína, obteve-se o

valor de 413 U/g, no método de hidrólise do azeite (SOARES, 1999). Este valor foi superior que o de Dabaja et al. (2013) e Bezerra et al. (2013) obtiveram (190,80U/g). Na avaliação do sobrenadante resultante da imobilização com PHB não apresentava atividade hidrolítica, indicando máxima eficiência de imobilização.

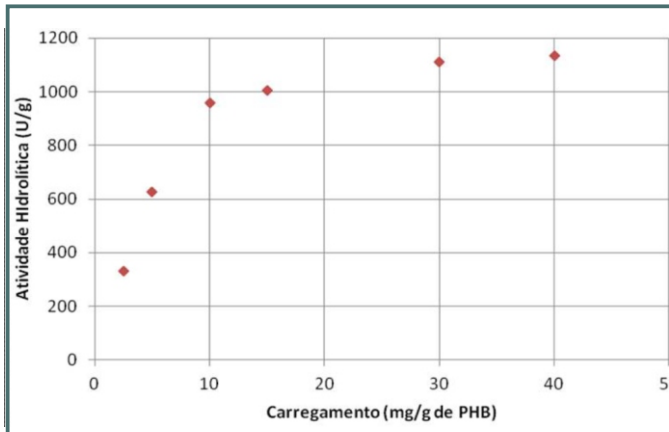


Figura 1. Atividade hidrolítica teórica da Lipase AK livre no sobrenadante, durante o procedimento de imobilização, em função dos diferentes carregamentos de proteína.

Mendes (2009) identifica que atividade hidrolítica real é inferior a teórica devido à existência agentes protetores de enzima, presentes no pó comercial e, por consequência, na solução com enzima livre. Além disso, quando imobilizada, a enzima forma ligações diversas com o suporte, que podem distorcer ou inibir a ação dos sítios ativos das enzimas.

Análise dos fatores de interferência à reação transesterificação

Influência do pH na determinação da atividade hidrolítica

Na Figura 2 apresentam-se os resultados obtidos no estudo da atividade hidrolítica da enzima lipase AK livre e imobilizada em PHB.

Observa-se na Figura 2 que a lipase AK na sua forma livre apresentou pH ótimo igual a 7,5; enquanto na sua forma imobilizada apresentou atividade máxima em pH igual a 8,0. Geralmente, o processo de imobilização confere uma maior

estabilidade ao pH à enzima imobilizada, uma vez que em pH 5,0 a enzima imobilizada ainda apresentava cerca de 20% de atividade. Este fato corrobora o observado na literatura, que em muitos casos o processo de imobilização atua no sentido de aumentar a estabilidade ao pH (PEREIRA et al., 2001).

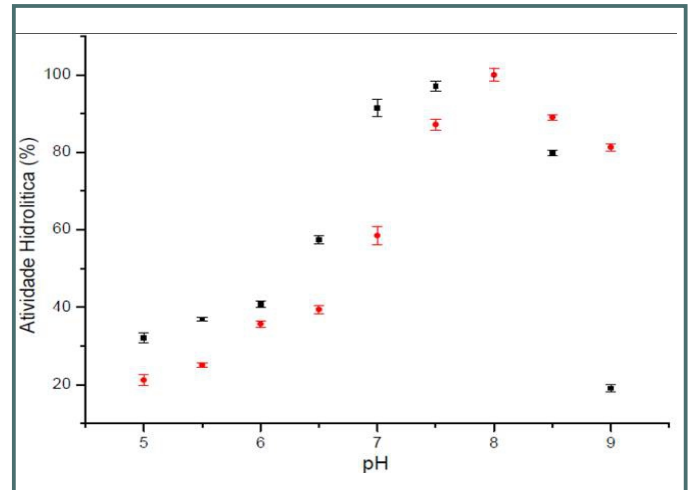


Figura 2. Influência do pH na atividade hidrolítica da lipase AK livre e imobilizada em PHB. Ensaios foram realizados a 37°C, no tempo de 5 minutos.

Da avaliação da atividade hidrolítica da lipase livre e imobilizada, considerando os valores reais expresso em “U/g”, o desempenho da enzima imobilizada é superior ao da enzima livre, uma vez que a menor atividade verificada da enzima imobilizada foi em pH 5,0, situação em que foi quantificado 6872 U/g, contra 2248 U/g medido para o mesmo pH, quando a enzima encontrava-se na forma livre. A mesma situação foi verificada nos valores com maior rendimento de atividade, pois quando o pH era 8,0, a atividade hidrolítica medida para a enzima imobilizada era 24409 U/g, contra 7000 U/g medido no mesmo pH, porém com a enzima livre.

De acordo com a literatura para a lipase AK (*P. fluorescens*) imobilizada em quitosana também não foi observada mudança de pH ótimo de atuação em relação à enzima livre (ITOYAMA et al., 1994).

Influência da temperatura na determinação da atividade hidrolítica

Observa-se na Figura 3 que a máxima atividade hidrolítica da lipase livre ocorreu a 50°C quando alcançou 6883 U/g de pó (atribuída eficiência de 100% de atividade relativa no gráfico), enquanto a lipase imobilizada apresentou uma atividade máxima igual a 172,78 U/g suporte seco a 40°C. Nesse caso, o processo de imobilização não atuou no sentido de aumentar a temperatura ótima da enzima, não sendo favorável, pois quanto maiores as temperaturas de operação menores são os riscos de contaminação microbiana, mas pode ocorrer o fenômeno de desnaturação térmica da enzima.

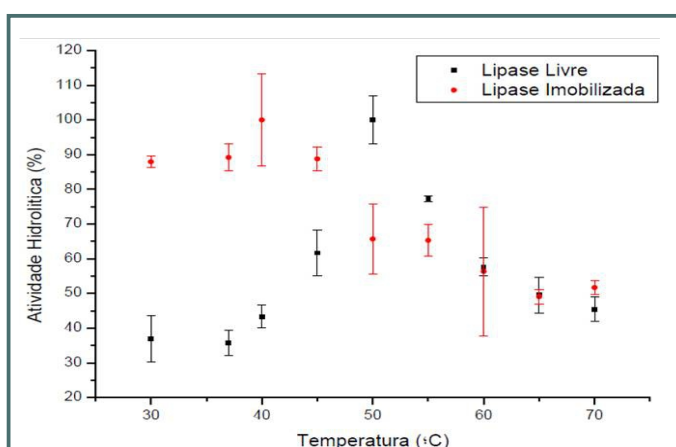


Figura 3. Influência da temperatura na atividade hidrolítica da lipase livre e imobilizada em PHB. Hidrólise do azeite de oliva por 5 minutos em pH 7,0.

No caso da influencia da temperatura, o comportamento da enzima livre muda, quando comparado ao seu comportamento nas alterações de pH. Verifica-se que a ascensão e declínio é logarítmica, sendo que o ponto de máxima eficácia catalítica, dista dos outros valores extremos em 20% no mínimo. Isso demonstra um comportamento instável da enzima, quando em condições de pequenas variações de temperatura, a considerar que seu uso fora da temperatura ideal pode não ser indicado, quando ela é utilizada como biocatalisador da reação de transesterificação.

No caso da lipase imobilizada, a expressão da atividade foi mais lenta, sendo que na faixa de temperatura de 30 a 45°C, sua variação em eficiência catalítica ficou entre 88% a 100%. A máxima atividade hidrolítica foi em 40°C, onde a

atividade medida foi de 23497 U/g de pó (atribuída eficiência de 100% de atividade relativa no gráfico). Dentro da faixa de temperatura ideal, a enzima imobilizada apresenta-se funcional, uma vez que a oscilação da eficácia é sutil, permitindo inferir que a enzima permanece estável nas alterações de temperatura durante a reação de transesterificação.

Na literatura são encontrados exemplos de alteração da temperatura ótima da enzima livre e imobilizada tanto no sentido de aumento como diminuição. Por exemplo, a enzima amiloglucosidase apresenta ótimos diferentes em função do tipo de substrato (amido, milho, batata, mandioca, entre outros) e do suporte empregado na imobilização (ZANIN, 1989; ZANIN e MORAES, 2004).

Reação de transesterificação enzimática do resíduo gorduroso e etanol

A produção de ésteres etílicos (biodiesel) por via enzimática envolve um mecanismo complexo dependente do tipo de substrato, enzima, solvente orgânico e concentração do meio reacional. Para verificar a atividade catalítica da preparação de lipase imobilizada em PHB, inicialmente foi realizado um teste preliminar mantendo condições fixas de temperatura, massa de biocatalisador e razão molar do óleo/ álcool baseado em estudos já pesquisados na literatura (BARON, 2008; FACIO, 2004; SILVA, 2010 e SILVA, 2011).

As reações de síntese de biodiesel a partir do resíduo gorduroso foram realizadas em recipientes fechados, utilizando agitação mecânica (200 rpm), na temperatura de 45°C e razão molar fixa 1:9 resíduo gorduroso/ etanol. As reações foram incubadas com a lipase imobilizada em proporção 10% em relação à massa total dos reagentes e conduzidas por determinados períodos de tempo (12, 24, 48, 72 e 96h), com retirada dos recipientes amostrais para purificação e posterior dosagem dos ésteres etílicos formados.

Após os tempos pré-determinados, as

amostras foram coletadas e purificadas, sendo removidos: o derivado imobilizado, a glicerina, o etanol e a umidade. A análise por cromatografia gasosa apresentou os seguintes percentuais de ésteres, mostrados na Tabela 3. Verifica-se que o rendimento no tempo de 48 h atingiu uma porcentagem de 73,5% em éster etílico bastante similar ao tempo de 96 h. Neste caso, novos testes foram necessários, a fim de verificar a aplicabilidade de uma reação de transesterificação ocorrendo em tempos menores que 48 h, com a finalidade de produção de 100% de conversão em biocombustível.

Tabela 3
Percentual de ésteres obtidos na reação de transesterificação em diferentes tempos de reação

| Tempo (h) | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
|-------------------|------|------|------|------|------|
| Éster Etilico (%) | 63,8 | 64,7 | 73,5 | 69,9 | 74,4 |

CONCLUSÕES

De uma maneira geral a matéria-prima testada atendeu o grau de pureza requerido para ser utilizada na reação de transesterificação, apresentando índices de acidez e peróxido dentro dos padrões.

A imobilização por adsorção física da lipase AK com PHB apresentou um rendimento em imobilização bastante satisfatório. O melhor carregamento de proteína no derivado imobilizado foi de 30 mg de lipase AK a cada grama de PHB, apresentando uma atividade catalítica de 413 U/g.

A melhor expressão em atividade relativa da lipase livre e imobilizada em termos de pH foi em 8,0, enquanto que a atividade relativa ótima na temperatura foi de 40°C para lipase imobilizada e 50°C com a lipase livre.

O desempenho do catalisador bioquímico foi eficiente para a matéria-prima testada fornecendo rendimentos de transesterificação superiores a 50%. Nas condições testadas, utilizando o óleo de fritura para produção de biodiesel, alcançou conversões

máximas de 75% num período de 48h.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela bolsa, a UNIFAL-MG, a UFSCar pelas análises cromatográficas e a EEL/USP pelas análises de viscosidade.

REFERÊNCIAS

- AOCS (Ca 5a-40): American Oil Chemists' Society. 5ª ed., USA, 1998.
- AOCS. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. Champaign: American Oil Chemists' Society, USA, 2004.
- ARRUDA BOTELHO, C. A. V. de. *Viabilidade Técnica e Aspectos Ambientais do Biodiesel Etilico de Óleos Residuais de Fritura*. 2012. 121 f. Dissertação (Mestrado em Energia) – EP / FEA / IEE / IF da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2012
- BARON, A. M. *Preparação e Caracterização de Lipases Imobilizadas para a Utilização em Biocatálise*. 2008. 138f. Dissertação (Doutorado em Química). Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2008
- BEZERRA, P. H. A.; HIRATA, D.B.; PEREIRA, E.B. Aplicação de lipase AK comercial de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em suporte PHB na síntese de bioaromas. *Anais SIC 2013 UNIFAL*, 2013. Acesso em 28 de abril de 2013, disponível em: <http://www.unifal-mg.edu.br/prppg/trabalhos/SIC2013>.
- BRASIL. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. *Resolução ANP nº 14 de 11 de maio de 2012. Especificação do Biodiesel contida no Regulamento Técnico ANP nº 4/2012*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, seção 1, 18 maio. 2012.
- BRASIL. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA. *Resolução RDC nº 482 de 23 de setembro de 1999. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Poder Executivo, 13 outubro. 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa MAPA nº. 49, de 22 de dezembro de 2006. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Óleos Vegetais Refinados; a Amostragem; os Procedimentos Complementares; e o*

- Roteiro de Classificação de Óleos Vegetais Refinados. Diário Oficial da União, Brasília, DF, seção 1, 26 dez. 2006.
- BRADFORD, M. M. A. *Rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding*. Analytical Biochemistry, v. 72, 1976.
- DABAJA, M. Z.; HIRATA, D.B.; PEREIRA, E.B. Imobilização da lipase AK em PHB e sua aplicação na reação de transesterificação de óleo de açaí. *Anais SIC 2013 UNIFAL*, 2013. Acesso em 28 de abril de 2013, disponível em: <http://www.unifal-mg.edu.br/prppg/trabalhosSIC2013>.
- FACCIO, C. *Estudo da Produção de Ésteres Etilícos a partir da Alcoólise de Óleos Vegetais*. 2004. 86f. Dissertação (Mestrado Engenharia de Alimentos), Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, 2004.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análises de alimentos*. 3º. ed. São Paulo :Instituto Adolfo Lutz, v.1, 533 p, São Paulo 1985.
- ITOYAMA, K.; TOKURA, S. e HAYASHI, T. *Lipoprotein lipase immobilization onto porous chitosan beads*. Biotechnology Progress, v. 10, p 225 – 229. 1994
- MARTINS, D. J. M.; *Biodiesel, a alternativa Energética Brasileira para o Setor de Transportes Públicos e de Cargas*. 2006. 11 f. Resenha Técnica COOPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006. Acesso em 16 de novembro de 2012, disponível em: <http://waste.com.br/textos/Biodiesel-Deraldo.pdf>.
- MENDES, A. A. *Seleção de suportes e protocolos de imobilização de lipases para a síntese enzimática de biodiesel*. 2009 194 f., Dissertação (Doutorado Engenharia Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.
- MORETTO, E.; FETT, R. *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos*. Varela, S Paulo, 1998.
- PEREIRA, E.B.; MORAES, F. F.; CASTRO, H. F.; ZANIN, G. M. *Kinetic studies of Lipase from *Candida rugosa*: A Comparative study of the free and the immobilized enzyme on porous chitosan beads*. Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 91/93. P. 739-752. 2001.
- RODRIGUES, R. C.; Síntese de biodiesel através de transesterificação enzimática de óleos vegetais catalisada por lipase imobilizada por ligação covalente multipontual. Dissertação (Doutor Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009. Acesso em 14 de agosto de 2013, disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/15447/000681060.pdf?sequence=1>.
- SCAMILHE, E. de P.; SMITH, L. P.; RÓS, P. M. da; PEREIRA, E.B. *Análise de Rendimento dos Óleos de Café e de Soja na Produção de Biodiesel via Rota Enzimática*. Resumo. ENZITEC 2012 – Xth Brazilian Seminar on Enzyme Technology – 7th –10th of October, 2012, Blumenau, SC, 2012. Acesso em 06 de junho de 2014, disponível em: http://www.furb.br/enzitec/2012/_app/_FILE_RESUMO_CD/90.pdf.
- SILVA, A.E. *Estudo do Processo Enzimático de Produção de Biodiesel a partir de Óleos e Gorduras Residuais de Fritura*. 2010. 62f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Alagoas. Maceió. 2010.
- SILVA, G. DOS S.; INOUE, D. Y.; DORS, G.; FURIGO JR., A. e CASTRO, H. F. *Desempenho de diferentes lipases imobilizadas na síntese de biodiesel de óleo de palma*. Acta Scientiarum. Technology, v. 33, n. 2, p. 197-203, Maringá. 2011.
- SOARES, C. M. F.; DE CASTRO, H. F.; DE MORAES, F. F.; ZANIN, G. M. Characterization and utilization of *Candida rugosa* lipase immobilized on controlled pore silica. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 77-9, p. 745-757, 1999.
- SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. *Química Orgânica*. 8ª Edição, LTC: São Paulo 2006.
- SOUZA, M. A. *Conversão de Resíduos Gordurosos de Frituras com a Produção de Biodiesel por Rota Catalítica Heterogênea*. 2010. 178f. Dissertação (Doutorado Engenharia Ambiental) Universidade Federal de Santa Catarina; Santa Catarina. 2010.
- SUAREZ, P. A. Z.; SANTOS, A. L. F.; RODRIGUES, J. P.; ALVES, M. B. *Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: desafios tecnológicos para viabilizá-los*. Quím. Nova, São Paulo, vol.32, n.3, p. 768-775, 2009.
- VEIGA FILHO, A. A. *Novo ciclo do Proálcool: Problemas derivados do aumento da produção do etanol*. Revista Eletrônica de Jornalismo Científico, 2008.
- WUST, E. *Estudo da Viabilidade Técnico-científica da Produção de Biodiesel a Partir de Resíduos Gordurosos*. 2004. 101f. Dissertação (Mestrado Engenharia Ambiental). Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2004.
- ZANIN, G. M. *Sacarificação do amido em reator de leito fluidizado com enzima Amiloglicosidase imobilizada*. 1989. 78f. Dissertação (Doutorado Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1989.
- ZANIN, G. M. e MORAES, F. F. *Enzimas Imobilizadas*. In: Said, S., Pietro, R. C. L.. (Org.). *Enzimas como Agentes Biotecnológicos*. 1a ed. Ribeirão Preto: Leggis Summa Ltda, v.01, p.35-85. 2004.

Recuperação de Pd(II) de catalisadores automotivos exauridos sobre a resina de troca iônica 2-vinilpiridina-divinilbenzeno

Pd(II) recovery from exhausted automotive catalysts using 2-vinylpyridine-divinylbenzene ion exchange resin

Juvan Pereira da Silva e Aparecido Ribeiro de Souza*

Universidade Federal de Goiás
* aparecido_souza@ufg.br

Submetido em 01/06/2015; Versão revisada em 17/07/2015; Aceito em 20/07/2015

Resumo

Este trabalho apresenta o estudo sobre a lixiviação e extração de Pd de catalisadores automotivos exauridos (CAE). O catalisador foi caracterizado por difração de raios-X (DRX) e fluorescência de raios-X (FRX) sendo identificado como o mineral cordierita. A lixiviação dos metais nobres do suporte catalítico foi avaliada em solução de água-régia (3:1 v/v, HCl para HNO₃) e mistura sulfonítrica (1:1 v/v, HNO₃ para H₂SO₄) em diferentes tempos. A separação dos componentes da mistura lixiviada foi realizada com uma resina de troca iônica de 2-vinilpiridina-divinilbenzeno (DVB-2-VPY) e os metais eluídos foram determinados por espectrometria de absorção atômica (EAA). A capacidade de troca da resina foi determinada para os íons [PdCl₄]²⁻ e [PtCl₆]²⁻ sendo 1,74 mmol/g, e a melhor eficiência de extração foi alcançada para o paládio em 83,1%.

Palavras Chave: Catalisador automotivo, paládio, troca iônica, metais do grupo da platina

Abstract

This work presents a study about leaching and extraction of Pd and Pt from exhausted automotive catalysts (EAC). The catalyst was characterized by X-ray diffraction (XRD) and X-ray fluorescence (XRF) and it was identified as cordierite. The leaching of the supported noble metal catalysts was evaluated in aqua regia solution (3:1 v/v, HCl to HNO₃) and sulfonitric mixture (1:1 v/v, H₂SO₄ to HNO₃) at different time. The separation of the components of a mixture leached was carried through with an ion exchange resin to 2-vinylpyridine-divinylbenzene (DVB-2-VPY) and metal eluted from the resin were analyzed by atomic absorption spectrometry (AAS). The exchange capacity of the resin was determined for [PdCl₄]²⁻ and [PtCl₆]²⁻ ions 1.74 mmol/g, and the highest extraction efficiency achieved was 83.1% for palladium.

Key Word: Automotive catalytic converter, palladium, ion exchange, platinum group metals

INTRODUÇÃO

O paládio, um metal branco prateado parecido com a platina, ocorre em baixos teores na natureza como os outros elementos dos metais do

grupo da platina (MGP), do qual fazem parte seis elementos químicos: platina, paládio, ródio, rutênio, ósmio e irídio; que, juntamente, com o ouro e a prata, são conhecidos como metais preciosos ou metais nobres (COTTON, 1997).

O paládio e os outros MGPs possuem propriedades físicas e químicas semelhantes, são refratários, quimicamente inertes a elevadas temperaturas, possui alta resistência a corrosão e alto ponto de fusão. Essas propriedades conferem aos MGPs diversas aplicações como, por exemplo: na microeletrônica, em células combustíveis, na medicina e em catálise, bem como em jóias e no mercado de investimentos (BLACK, 2000; MUROI, 2012; BATZER e COPPONNEX, 2014).

Atualmente, a maior demanda pelo paládio é na fabricação de catalisadores automotivos de três vias (WOLOWICZ e HUBICKI, 2011), que reduzem o nível de gases indesejáveis exauridos pelos escapamentos dos automóveis, tais como monóxido de carbono (CO), hidrocarbonetos não queimados (HC) e óxidos de nitrogênio (NO_x) (RANGEL e CARVALHO, 2003).

Embora o paládio esteja presente em quantidade muito pequena nos catalisadores, dentre os MGPs é o que possui maior concentração (ca. 88% em relação aos MGPs) (AMATAYAKUL e RAMNÄS, 2001) sua recuperação é incentivada devido ao seu valor intrínseco e a demanda irrefutável na indústria química (BÖCK, 2006).

As tecnologias de recuperação de MGP dos catalisadores exauridos foram revisadas nas últimas décadas (BÖCK, 2006; BERNARDIS, et al., 2005; BARAKAT, 2006) e dois processos, comercialmente viáveis, já estão em operação em alguns países; o pirometalúrgico e o hidrometalúrgico.

O processo pirometalúrgico (FORNALCZYK e SATERNUS, 2013) envolve a fusão em altas temperaturas do catalisador automotivo triturado em um cadinho contendo um metal coletor (geralmente, ferro ou cobre). Os MGPs são separados da escória com os metais coletores que são mais densos e se depositam na base do cadinho.

Numa segunda etapa, os MGPs são separados do metal coletor por dissolução com água-régia, seguido de separação por redução com

outros metais. Os principais problemas deste processo estão relacionados ao elevado número de etapas, com consumo de muitos materiais e energia (BENSON, et al., 2000).

No processo hidrometalúrgico (ABERASTURI, et al., 2011), os MGPs são dissolvidos na maior parte sob a forma de cloro-complexo e separados da solução por redução com outros metais, tais como Al, Fe ou Zn ou extração por solvente. A introdução do metal como agente redutor, apesar de ser uma das tecnologias praticadas, com bons rendimentos e baixo custo, gera uma quantidade elevada de resíduos indesejáveis.

Por isso a extração por solventes tem sido proposta como alternativa viável, contudo o pré-requisito para este processo é que a concentração de cada MGP em solução aquosa seja superior a 100 ppm. No entanto, as concentrações das soluções dos MGPs obtidos por lixiviação com água-régia são geralmente inferiores. Assim, a pré-concentração de MGP na solução é necessária e podem ser alcançadas utilizando resinas de troca iônica.

Em função disso, alguns trabalhos tem sido desenvolvidos no sentido de utilizar diferentes sistemas oxidantes para a solubilização dos MGPs (ABERASTURI, et al., 2011), bem como diferentes sistemas de separação de outros metais presentes no suporte catalítico que são solubilizados juntamente com os MGPs (PARODI, et al., 2008 e SWAIN, et al., 2010, NIKOLOSKI, 2015).

Dentre estes, destacam-se as resinas a base de vinilpiridina, devido a sua alta estabilidade em meio oxidante (KONONOVA, et al., 1998).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de duas misturas oxidantes na lixiviação de Pd e Pt presentes em catalisadores automotivos exauridos, em escala de bancada e em seguida separar o Pd dos outros metais presentes na solução de lixiviação por meio da adsorção na resina de troca iônica, a 2-vinilpiridina-divinilbenzeno (2-Vpy-DVB).

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico. O catalisador automotivo exaurido foi obtido de um automóvel com motor a álcool a explosão com 08 anos de uso. Ele foi caracterizado por difração (DRX) e fluorescência de raios-X (FRX). Os difratogramas de raios-X foram obtidos pelo método do pó em um equipamento Shimadzu, modelo XRD 6000, utilizando-se radiação Cu-K α ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$). A fluorescência de raios-X foi obtida do catalisador *in natura* em um equipamento Shimadzu, modelo XRF-1800, utilizando fonte de ródio. Os teores dos íons metálicos em solução foram determinados por Espectrometria de Absorção Atômica (EAA), em um equipamento Perkin Elmer, modelo Analyst 200. A chama utilizada para todos os metais foi produzida por uma mistura de ar/acetileno, exceto para platina e alumínio, que foi utilizado por uma mistura de acetileno/óxido nítrico. Todos os padrões utilizados foram da marca Merck e Titrisol, bem como lâmpada de cátodo oco para cada um dos metais. As concentrações dos íons em solução foram determinadas usando curva de calibração.

Lixiviação do paládio do catalisador automotivo exaurido

Com o objetivo de determinar a melhor condição para a lixiviação do Pd contido no catalisador, foram estudados dois tipos de misturas oxidantes: mistura sulfonítrica, HNO₃:H₂SO₄ 1:1 (v/v), e solução de água-régia, HNO₃:HCl 1:3 (v/v). Volumes iguais de solução oxidante foram adicionadas sobre catalisador exaurido previamente triturado, na razão 10:1 (v/m) e aquecido por uma hora. As soluções resultantes foram filtradas e determinados os teores de Pt e Pd por EAA.

Ao verificar que a solução de água régia foi a melhor solução para extração de Pd, avaliou-se o melhor tempo de lixiviação. Assim, repetiu-se o

procedimento anterior para diferentes tempos entre 1 a 12 horas. Todas as soluções obtidas foram filtradas e aos sobrenadantes adicionados porções de 50 mL de água destilada, com aquecimento, para eliminação dos vapores de NO_x. Em seguida, as soluções produzidas foram avolumadas para 50 mL e analisados os teores de Pt e Pd por EAA.

Separação e extração do paládio com resina aniônica

O paládio lixiviado foi separado dos outros íons por adsorção e dessorção seletiva em resina de troca aniônica, do tipo copolímero 2-vinilpiridina-divinilbenzeno (2-VPy-DVB), previamente preparado (COUTINHO, RABELO, 1992). A adsorção foi realizada colocando-se em contato 20 mL do produto de lixiviação com cinco diferentes quantidades de resina acidificada: 0,0233, 0,1165, 0,2330, 0,3350 e 0,4660 e 0,6990 g, a 45°C por 24 h. Em seguida, as resinas foram separadas por filtração e secas à 70 °C por 3 h. A resina correspondente ao quinto ensaio de adsorção (0,4660g) foi então empacotada em uma coluna cromatográfica, lavada com três porções de 20 mL de HCl 0,1 mol/L e eluída com 50 mL de solução água/álcool a 10 % de tiourea (0,1 mol/L).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Descrição do catalisador automotivo exaurido

O catalisador automotivo exaurido foi caracterizado por DRX e FRX. Nos difratogramas de raios-X (Figura 1) observa-se sinais bastante intensos referentes a cordierita (JCPDS No. 13-0294), que tem como fórmula química, 2MgO₂Al₂O₃5SiO₂. Adicionalmente aos sinais da cordierita observa-se, também, sinais referentes a CeO₂ (JCPDS No. 34-0394) e ZrO₂ (JCPDS No. 49-1642), que são adicionados para aumentar a área superficial e estabilizar a estrutura do suporte catalítico (ABERASTURI, et al., 2011). Esta composição é relatada na literatura

(MARTÍN et al., 2003), que determina a presença da cordierita como fase principal e óxido de cério dopado com óxido de zircônio como fase secundária.

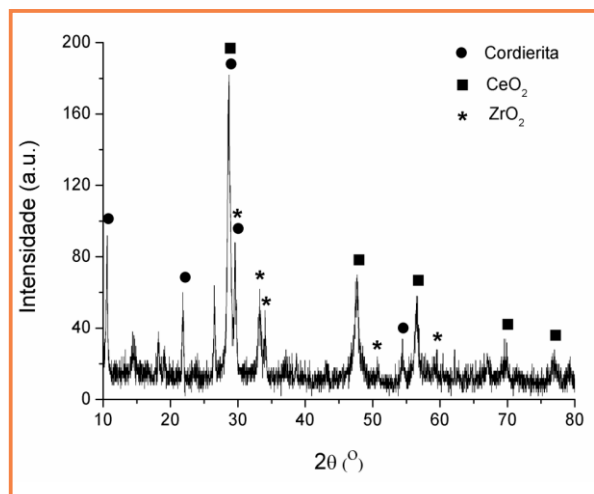


Figura 1. Difratograma de raios-X, método do pó, do catalisador automotivo exaurido.

A composição química elementar do catalisador foi determinada por fluorescência de raios-X e os resultados apresentados na Tabela 1. A presença dos elementos oxigênio, alumínio e silício em teores maiores (33,0%, 24,7% e 16,4%, respectivamente) confirma que o suporte catalítico utilizado é realmente a cordierita. A presença de outros elementos é devido a impregnação de óxidos, como CeO₂, MgO e ZrO₂, que são utilizados para melhorar o desempenho dos catalisadores, bem como outros oriundos de aditivos de óleos lubrificantes e combustíveis queimados na câmara de combustão e que ficam aderidos ao suporte catalítico na exaustão dos gases (MARTÍN, et al., 2003).

Tabela 1
Composição química elementar do catalisador automotivo exaurido determinada por fluorescência de raios-X

| Elementos | Teor % |
|-----------|--------|
| O | 33,04 |
| Al | 24,74 |
| Si | 16,49 |
| Ce | 11,33 |
| Mg | 4,19 |
| P | 3,34 |
| F | 2,50 |
| S | 1,29 |
| Fe | 0,95 |
| Zr | 0,84 |
| Ca | 0,53 |
| Ti | 0,35 |
| Zn | 0,25 |
| K | 0,10 |
| Ni | 0,08 |

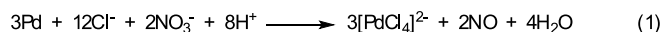
Lixiviação de platina e paládio do catalisador exaurido

Inicialmente, foram avaliadas duas soluções oxidantes para a lixiviação de platina e paládio: solução sulfonítrica e solução de água-régia. Em ambas, tanto a platina quanto o paládio foram lixiviados, dentro dos limites de detecção da técnica utilizada, enquanto o ródio não foi detectado (Tabela 2).

Tabela 2
Concentração de Pt e Pd em diferentes meios de lixiviação

| Solução de lixiviação | Concentração (mg/L) | |
|-----------------------|---------------------|-----|
| | Pd | Pt |
| Sulfonítrica | 62,0 | 2,9 |
| Água régia | 127,0 | 1,0 |

A lixiviação com água régia mostrou-se mais eficiente para o paládio, uma vez que, no mesmo tempo de reação, foi extraído cerca de 50 % a mais de Pd que a solução sulfonítrica. A mesma possui um forte agente oxidante, o HNO₃, e uma elevada concentração de íons cloretos que combinados oxidam os metais em seu estado maior de oxidação e formam cloro-complexos estáveis com paládio e platina, [PdCl₄]²⁻ e [PtCl₆]²⁻, respectivamente (Eq. 1 e 2). Assim, os demais experimentos foram realizados utilizando-se solução de água régia como agente de lixiviação.



O tempo de lixiviação com solução de água régia foi, também, estudado e os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3
Concentração de íons platínicos e paládicos em diferentes tempos de lixiviação com água régia.

| Elementos | Concentração em mg/L | | | | | |
|-----------|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 12h |
| Pd | 198 | 213 | 230 | 220 | 265 | 200 |
| Pt | 1,2 | 1,2 | 1,3 | 1,3 | 1,3 | 2,0 |

Observa-se que os tempos de melhor rendimento de lixiviação são diferentes para platina e paládio. Para a platina foram necessárias 12 horas de reação, enquanto que para o paládio seu melhor rendimento ocorreu em cinco horas de reação, com a ressalva que em tempos entre quatro a cinco horas, há necessidade de se repor a solução de água régia que evapora durante o processo. Resultados similares foram relatados na literatura para o sistema: ácido clorídrico e peróxido de hidrogênio (BARAKAT, et al., 2006).

Extração de paládio com resina aniônica

Embora o objetivo da lixiviação fosse extrair exclusivamente o paládio, o procedimento também lixivia outros metais do catalisador, além da platina, como: K, Mg, Ca, Fe, Ni, Cu, Zn e Al; tornando-se necessário a extração do paládio dessa mistura. Para isso, utilizou-se a resina 2-VPy-DVB, um copolímero bloco do tipo gel, com grupos piridina, que em meio ácido, são protonados transformando a resina em trocadora de ânions. A estrutura carregada dessa resina está representada na figura 2

Assim, ao passar o produto da lixiviação sobre a resina, as espécies aniônicas, como o $[PdCl_4]^{2-}$ e o $[PtCl_6]^{2-}$, são extraídas por adsorção eletrostática com os grupos catiônicos presentes na superfície da resina.

A capacidade de troca da resina foi

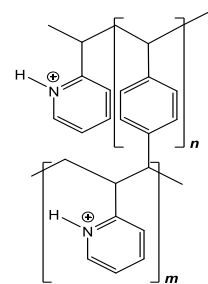


Figura 2. A estrutura monomérica do copolímero 2-vinilpiridina-divinilbenzeno (2-VPy-DVB)

determinada conforme procedimentos descritos na literatura (SINGARE, et al., 2009) e o valor determinado para a espécie $[PdCl_4]^{2-}$ e $[PtCl_6]^{2-}$ foi 1,74 mmol/g de resina. A adsorção de íons metálicos por grama de resina (Tabela 4) foi obtida utilizando-se massas crescentes de resina colocadas em contato com a solução de lixiviação a 45 °C por 2 h.

Observa-se uma tendência crescente da adsorção de íons metálicos e a quantidade de resina para todos os íons, sendo o paládio e platina os íons que apresentam a melhor extração na seguinte ordem Pt > Pd > Zn > Ca > Fe > Mg > Ni (com percentuais de adsorção de 100%, 83,1%, 23,8%, 23,4%, 23,2%; 20% e 9,3%, respectivamente). A resina não adsorve os íons de K, Cu e Al. Uma maior adsorção de Pd é provavelmente impedida devido a presença dos outros metais na solução de lixiviação (PARODI, et al., 2008). Contudo, a adsorção de 83,1% de paládio obtida é superior a determinada em outros trabalhos (KONONOVA, et al., 1998) que usam resinas comerciais com 50 % em vinilpiridina.

Tabela 4
Concentração de adsorção dos metais presentes na solução de lixiviação do catalisador automotivo exaurido após 24 h de contato com a resina 2-VPy-DVB a 45°C.

| Massa de resina (mg) | % (m/m) de metais adsorvidos na resina | | | | | | | | |
|----------------------|--|-----|------|------|------|------|-----|------|------|
| | Pd | Pt | Fe | Ni | Zn | Mg | K | Cu | Ca |
| 0,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 23,3 | 41,4 | Nd* | 37,1 | 28,9 | 28,8 | 24,1 | 7,5 | 17,4 | 30,8 |
| 116,5 | 53,5 | Nd* | 39,7 | 29,6 | 36,7 | 16,5 | 0 | 16,9 | 39,5 |
| 233,0 | 69,3 | Nd* | 38,5 | 27,5 | 45,8 | 17,8 | 0 | 10,8 | 35,1 |
| 349,5 | 74,4 | Nd* | 38,6 | 28,2 | 48,2 | 16,5 | 0,4 | 6,7 | 37,5 |
| 466,0 | 80,5 | Nd* | 38,6 | 27,5 | 39,1 | 17,7 | 2,1 | 2,3 | 38,7 |

* abaixo do limite de detecção.

em outros trabalhos (KONONOVA, et al., 1998) que usam resinas comerciais com 50 % em vinilpiridina.

Eluição dos íons metálicos adsorvidos na resina

Os íons metálicos adsorvidos na resina foram eluídos em duas etapas com objetivo de recuperar paládio com maior grau de pureza, ou seja, uma solução de paládio isenta dos outros íons lixiviados. Com isso, numa primeira etapa utilizou-se solução de HCl 0,1 mol/L para dessorver todos os íons catiônicos (Fe^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} e Ca^{2+}), deixando preso na resina os íons cloro-complexos de paládio e platina que se apresentam na forma de um ânion complexo. Numa segunda etapa, o ânion-complexo de paládio foi dessorvido utilizando-se uma solução de tiouréia 0,1 mol/L dissolvida em solução alcoólica a 10 %, porém não foi possível detectar platina que provavelmente permaneceu adsorvida na resina. De acordo com a literatura (SWAIN, et al., 2010) a tioureia complexa com sais de paládio, formando o complexo neutro, $\text{PdCl}_2[(\text{NH}_2)\text{CS}]_2$, que é rapidamente dessorvido da resina.

Os resultados da recuperação dos metais em solução estão na Tabela 5. Observa-se uma elevada adsorção de 80 % de paládio, mas que não alcança uma eficiência maior devido provavelmente a competição com outros íons (SWAIN, et al., 2010).

Por outro lado, a recuperação do paládio foi bastante elevada, cerca de 99 %, com menos de 1%

de impurezas de outros metais.

Resultados similares foram obtidos (MATSUBARA, et al., 2000) utilizando resina de troca aniônica para recuperar traços de Au(III), Pd(II) e Pt(IV) de uma mistura de íons metálicos.

CONCLUSÕES

A mistura sulfonítrica lixivia melhor a Pt, enquanto que o Pd é melhor lixiviado pela solução de água régia, sendo o melhor tempo de lixiviação 2 horas. A resina 2-VPy-DVB mostrou-se bastante seletiva a separação do íon $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ de misturas complexas, contendo outros íons.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem ao prof. Dr. Denilson Rabelo (IQ-UFG) pelo fornecimento da resina 2-VPy-DVB, ao grupo Votorantim Metais de Niquelândia-GO pelas análises de FRX e ao suporte financeiro do CNPq.

REFERÊNCIAS

ABERASTURI, D.J.; PINEDO, R; LARRAMENDI, I.R.; LARRAMENDI, J.I.R; ROJO, T., Recovery by hydrometallurgical extraction of the platinum-group metals from car catalytic converters. *Miner. Eng. v.* 24, p. 505–513, 2011.

Tabela 5
Massa de metais na solução estoque, resina e eluição com HCl e tioureia. presentes e rendimentos de recuperação dos metais da solução estoque.

| Elementos | Massa (mg) | | | | | % de recuperação ^(f) |
|-----------|------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|---------------------------------|
| | Estoque ^(a) | Resina ^(b) | Filtrado ^(c) | HCl ^(d) | Tiouréia ^(e) | |
| Pd | 4,30 | 3,46 | 0,84 | 0,450 | 3,010 | (99,1) |
| Pt | 0,01 | 0,01 | Nd* | Nd* | Nd* | Nd* |
| Fe | 1,43 | 0,33 | 1,10 | 0,328 | 0,003 | (0,08) |
| Ni | 0,28 | 0,03 | 0,26 | 0,024 | 0,003 | (0,08) |
| Zn | 0,66 | 0,16 | 0,50 | 0,155 | 0,003 | (0,08) |
| Mg | 3,16 | 0,63 | 2,26 | 0,628 | 0,004 | (0,13) |
| K | 0,36 | 0,01 | 0,35 | 0,005 | 0,005 | (0,16) |
| Cu | 0,18 | 0,01 | 0,17 | 0,002 | 0,003 | (0,08) |
| Ca | 1,11 | 0,26 | 0,85 | 0,257 | 0,003 | (0,09) |
| Al | 36,0 | 1,00 | 35,0 | 0,997 | 0,003 | (0,14) |

a) em 20 ml de solução; b) adsorvido em 0,466 g de resina; c) presentes no filtrado d) após eluição com HCl; e) após eluição com tiouréia; f) teor na solução final; * abaixo do limite de detecção.

- AMATAYAKUL, W.; RAMNÄS, O., Life cycle assessment of a catalytic converter for passenger cars. *J. Cleaner Prod.* v. 9, P. 395-403, 2001.
- BARAKAT, M.A.; MAHMOUND, M. H. H.; MAHROUS, Y. S., Recovery and separation of palladium from spent catalyst. *Appl. Catal. A.*, v. 301, p. 182–186, 2006.
- BATZER, N.; COPPONNEX, T. (Ed.), Precious Metals for Biomedical Applications. 1^a. ed., Cambridge, UK, Woodhead Publishing, 2014.
- BENSON, M. ; BENNETT, C.R. ; HARRY, J.E. ; PATEL, M.K. ; CROSS, M., The recovery mechanism of platinum group metals from catalytic converters in spent automotive exhaust systems. *Resour., Conserv. Recycl.* v. 31, p. 1–7, 2000.
- BERNARDIS, F.L.; GRANT, R.A.; SHERRINGTON, D.C., A review of methods of separation of the platinum-group metals through their chloro-complexes. *React. Funct. Polym.* v. 65, p. 205–217, 2005.
- BLACK, W., The Platinum Group Metals Industry, 1^a. ed., Cambridge, UK, Woodhead Publishing, 2000.
- BÖCK, R. Use and Demand of Palladium for the Industry. In: ZEREINI, F.; ALT, F. (Ed.) Palladium Emissions in the Environment, 1^a. Ed, Springer Berlin Heidelberg, p. 39-51, 2006.
- COTTON, S.A., Chemistry of Precious Metals. 1^a. ed., London, UK, Blackie Academic & Prof., 1997.
- COUTINHO, F. M. B.; RABELO, D., Scanning electron microscopy study of styrene-divinylbenzene copolymers. *Eur. Polym. J.* v. 28, p. 1553-1557, 1992.
- FORNALCZYK, A.; SATERNUS, M., Platinum recovery from used auto catalytic converters in electrorefining process. *Metabk* v. 52, p. 219-222, 2013.
- KONONOVA, O. N.; KHOLMOGOROV, A. G.; MIKHLINA, E. V., Palladium sorption on vinylpyridine ion exchangers from chloride solutions obtained from spent catalysts, *Hydrometallurgy* v. 48, p. 65-72, 1998.
- MARTÍN, L.; ARRANZ, J. L.; PRIETO, O.; TRUJILLANO, R.; HOLGADO, M. J.; GALÁN, M. A.; RIVES, V., Simulation three-way catalyst ageing Analysis of two conventional catalyst. *Appl. Catal., B.* v. 44, p. 41-52, 2003.
- MATSUBARA, I.; TAKEDA, Y.; ISHIDA, K., Improved recovery of trace amounts of gold(III), palladium(II) and platinum(IV) from large amounts of associated base metals using anion-exchange resins. *Fresenius J. Anal. Chem.* 366, 213-217, 2000.
- MUROI, T. Role of precious metal catalysts. In: SU, Y.-H. (Ed.) Noble metals, 1^a. Ed, Intech, 2012.
- NIKOLOSKI, A.N; ANG, K.-L.; LI, D., Recovery of platinum, palladium and rhodium from acidic chloride leach solution using ion exchange resins. *Hydrometallurgy* v.152, p. 20–32, 2015.
- PARODI, A.; VINCENT, T.; PILSNIAK, M.; TROCHIMCZUK, A. W.; GUIBAL, E., Palladium and platinum binding on an imidazol containing resin. *Hydrometallurgy* v. 92, p. 1-10, 2008.
- RANGEL, M. C.; CARVALHO, M. F. A. Impacto dos catalisadores automotivos no controle da qualidade do ar. *Quím. Nova* v. 26, p. 265-277, 2003.
- SINGARE, P.U.; LOKHANDE, R.S.; VANMALI, N.P., Ion Exchange equilibrium study using strongly basic anion Exchange resin doulite-101D. *Rasayan J. Chem.* v. 2, p. 901-906, 2009.
- SWAIN, B.; JEONG, J.; KIM, S.-k.; LEE, J., Separation of platinum and palladium from chloride solution by solvent extraction using Alamine 300. *Hydrometallurgy* v. 104, p. 1-7, 2010.
- WOLOWICZ, A.; HUBICKI, Z., Investigation of macroporous weakly basic anion exchangers applicability in palladium(II) removal from acidic solutions – batch and column studies. *Chem. Eng. J.* v. 174, p. 510-520, 2011.

Compostos fenólicos e atividades biológicas de amostras comerciais de pólen apícola produzidas em diferentes estados brasileiros

Phenolic compounds and biologic activities of commercial samples of bee pollen from different Brazilian states

***Maria da Conceição Tavares Cavalcanti Liberato; Selene Maia de Moraes; Sônia Maria Costa Siqueira; Marina Maciel de Oliveira Silva; Emanuela Feitoza da Costa; Paula Ferreira Alves; Adriana Silva de Macedo.**

*Universidade Estadual do Ceará
liberato@secrel.com.br

Resumo

Determinações de fenóis totais, flavonóides, atividade antioxidante e inibição da Enzima Acetilcolinesterase foram realizadas em amostras comerciais de pólen de *Apis mellifera* L. produzidas nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Rio Grande do Sul. Foi usado o método de Folin-Ciocalteu na determinação de fenóis totais, o método do $AlCl_3$ na de flavonóides, o método do DPPH na atividade antioxidante e o de Rhee e colaboradores para o ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase. As amostras provenientes do Rio Grande do Sul apresentaram os melhores resultados. O objetivo desse trabalho foi identificar, em amostras de pólen apícola de regiões brasileiras diferentes, potencial para uso em indústrias de alimentos e fármacos.

Palavras-chave: Pólen Apícola; Compostos Fenólicos; Atividade Biológica.

Abstract

Determination of total content of phenols, flavonoids, antioxidant activity and inhibition of the Enzyme Acetylcholinesterase were made on commercial samples of *Apis mellifera* L. bee pollen produced from Ceará, Rio Grande do Norte and Rio Grande do Sul States. The Folin-Ciocalteu method was used for determination of phenolic content, the method of $AlCl_3$ for determination of flavonoids. The antioxidant activity of pollen was evaluated using the DPPH test and the method of Rhee and collaborators for the inhibition of the enzyme acetylcholinesterase. Samples from Rio Grande do Sul presented the better results. The objective of this study was to identify, in bee pollen samples from different Brazilian regions, potential use for food and pharmaceutical industries.

Keywords: Bee Pollen; Phenolic Compounds; Biological Activity.

INTRODUÇÃO

Pólen é o elemento fecundante masculino da flor, que atraído pelo ovário da mesma, fertiliza-a com o objetivo de formar as sementes, garantindo assim, a reprodução da planta. É formado por minúsculos grãos, localizados nas anteras dos estames da flor de onde é coletado pelas abelhas e

levados para a colônia para ser utilizado no preparo do alimento das larvas jovens em decorrência do alto valor nutritivo já que é rico em proteínas, minerais e vitaminas. O pólen é o único alimento proteico de uma colônia de abelhas melíferas colhido por abelhas forrageiras em seu ambiente natural. Sua presença na colmeia é um pré-requisito para o crescimento normal da colônia e desenvolvimento

das larvas (ISMAIL et al., 2013). Depois de pousar em várias flores a abelha começa a recolher os grãos de sua cabeça, tórax e abdômen, transferindo-os com ajuda das patas dianteiras e intermediárias e colocando-os nas corbículas. Em seguida, eles são escovados com os pentes tibiais, e os grãos aglutinados em bolotas ou grânulos (BREYER, 2007). Além da nutrição das abelhas, o pólen coletado no alvado das colmeias pode ser utilizado como complemento alimentar na nutrição humana, pois é uma importante fonte de proteínas (MOURA e PEGORARO, 2006).

Espécies reativas de oxigênio (ROS) têm importante papel em muitos processos fisiológicos e patogênicos (NAKAJIMA et al., 2009). O oxigênio molecular obtido da atmosfera é vital para os organismos aeróbicos, contudo radicais livres oxigenados são constantemente gerados *in vivo* para propósitos fisiológicos, mas muitas vezes são produzidos em excesso em condições patológicas, resultando no estresse oxidativo. Para proteger possíveis danos às moléculas biológicas, os organismos consumidores de oxigênio têm um sistema antioxidante bem integrado (MORAIS, 2007).

Atualmente, há uma demanda crescente de produtos naturais na dieta humana, devido a possíveis efeitos negativos de aditivos alimentares sintéticos sobre a saúde. Grande número de espécies de ervas aromáticas e medicinais assim como frutas e folhas de algumas plantas biossintetizam fitoquímicos que possuem atividade antioxidante, podendo ser usados como fonte natural de compostos anti-radicaais livres (BALTRUŠAITYTĖ, VENSKUTONIS, ČEKSTERYTĖ, 2007). Compostos fenólicos ou polifenóis são produtos do metabolismo secundário das plantas (GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006), estando relacionados com funções antioxidantes. Os polifenóis são os antioxidantes mais abundantes da dieta. O consumo diário pode atingir 1 g, o que é muito maior que o consumo de todos os outros

fitoquímicos classificados como antioxidantes. As plantas sintetizam centenas de compostos fenólicos e polifenólicos, que possuem variadas estruturas e funções. Entre estes compostos, encontram-se os flavonoides.

Há séculos, o pólen das abelhas vem sendo utilizado na medicina popular para aliviar e curar constipações, gripes, úlceras, envelhecimento precoce e outros problemas. Diversos trabalhos de pesquisa apontam para as potencialidades e interesse terapêutico do pólen de abelhas do gênero *Apis*, que vão desde o tratamento de rinites alérgicas, quanto ao uso como hepatoprotetor e antiteratogênico.

O pólen apícola é utilizado na alimentação humana como um suplemento alimentar por conter carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídios, vitaminas, minerais e traços de outras substâncias que podem compor a dieta da abelha melífera, em função da vegetação presente na região, já que sua composição química e bioquímica é determinada pela origem vegetal. O pólen apresenta quantidades significativas de substâncias fenólicas principalmente de flavonoides que exercem um papel antioxidante inibindo a ação lesiva dos radicais livres, prevenindo, desta forma, diversas enfermidades que adviriam com essa lesão celular.

O pólen apícola também vem sendo usado no tratamento de prostatite, devido às suas propriedades anti-inflamatórias e efeito antiandrogênico. Além disso, o pólen apícola também tem sido usado para melhorar o desempenho de atletas devido a um efeito positivo no consumo de oxigênio e na recuperação pós-exercício, além de ser útil em problemas de memória e no tratamento de bronquite. Assim, o conhecimento de sua composição físico-química, torna-se importante, no sentido de tipificar o produto obtido em diferentes regiões (MARCHINI, REIS, MORETI, 2006).

Portanto, pode-se afirmar que o pólen apícola vem se destacando tanto por suas propriedades

terapêuticas, por sua atividade antioxidante (SOMERVILLI e NICOL, 2006; ALMARAZ-ABARCA et al., 2007), quanto pela possibilidade de aplicação na indústria alimentícia, na forma de alimentos funcionais (MARCHINI; REIS e MORETI, 2006). Os principais constituintes do pólen apícola são os flavonoides e os ácidos fenólicos, sendo possível usá-los para a padronização do pólen em relação às suas propriedades nutricionais fisiológicas e no controle da qualidade das preparações de pólen apícola distribuídas no comércio (KROYER e HEGEDUS, 2001; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005).

O envelhecimento da população mundial durante as últimas décadas fez com que a demência passasse a ser um dos mais importantes problemas de saúde pública da atualidade (BROOKMEYER, GRAY, KAWAS, 1998; HENDERSON e JORM, 1998). A Doença de Alzheimer (DA) é a causa mais frequente de demência (EBLY et al., 1994) estando o estresse oxidativo fortemente envolvido no desenvolvimento e/ou progressão dessa doença (BAYNES e DOMINICZAK, 2010). Na DA são principalmente afetados os neurônios colinérgicos e o diagnóstico clínico depende da demonstração da existência de declínio em habilidades intelectuais como a memória, linguagem, percepção, atividades motoras, abstração e planejamento.

Uma das características dessa doença é o fato de seus portadores apresentarem uma menor atividade da enzima acetilcolina transferase no cérebro. Essa enzima sintetiza a acetilcolina pela transferência de grupos acetila da Acetil-CoA para a colina (BETTELHEIM et al., 2012). Um aumento no nível de acetilcolina poderia ajudar a combater a DA (GEORGE e CUTTING, 2007). A menor concentração de acetilcolina pode ser parcialmente compensada pela inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), a qual decompõe a acetilcolina. Os inibidores da acetilcolinesterase controlam o problema evitando que a pequena quantidade de acetilcolina produzida seja

degradada pela enzima responsável pela sua destruição, impedindo dessa forma a ação da enzima. Os pacientes que respondem aos inibidores da acetilcolinesterase podem manter ou mesmo melhorar a função cognitiva durante um período significativo, porém alguns pacientes não respondem à inibição da acetilcolinesterase.

É possível aumentar a atividade da acetilcolina por várias vias e a inibição da enzima que quebra a acetilcolina é apenas uma das formas. Outras incluem aumentar-se a liberação de acetilcolina e estimular diretamente os receptores da acetilcolina. Essas outras vias estão em estudo. A atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase pode ser investigada usando-se o teste de Ellman et al. (1961) modificado por Rhee et al. (2001).

Até hoje, os inibidores da acetilcolinesterase demonstraram eficiência no tratamento clínico dessa doença. A necessidade de novos inibidores naturais de AChE, sem efeitos colaterais, tem proporcionado inúmeras pesquisas na medicina popular, para o tratamento da amnésia, depressão, ansiedade e desordens cognitivas. O objetivo desse trabalho foi realizar uma pesquisa em amostras de pólen apícola brasileiras, produzidos pela abelha *Apis mellifera* L. já que uma vez identificadas suas potencialidades, novos produtos biotecnológicos poderão surgir.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

Amostras de pólen apícola (Figuras 1 e 2) provenientes dos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Rio Grande do Sul, produzidas pela abelha *Apis mellifera* L., foram obtidas no comércio de cada região de coleta. Quatro amostras foram oriundas da cidade de Trairi no Ceará, sendo uma amostra monofloral de pólen de coqueiro (AM) (*cocos nucifera*) e as outras (AH1, AH2 e AH3) heteroflorais de vegetação típica de mangue. A amostra de pólen da Serra dos Coqueiros, município de Venha Ver,

no Rio Grande do Norte era monofloral, e as do Rio Grande do Sul eram heteroflorais. As amostras foram coletadas entre 2013 e 2014.



Figura 1: Pólen apícola desidratado – amostra AAH₁ – Trairi - CE



Figura 2. Pólen Apícola desidratado – amostra AAH₁ – Rio Grande do Sul

Extratos Etanólicos de Pólen (EEP)

A preparação dos extratos seguiu a metodologia de Carpes et al. (2007) (Figura 3). As amostras de pólen (2g) foram trituradas, homogeneizadas e extraídas individualmente com 15 mL de etanol na concentração de 70% v/v. A extração foi feita a 70°C, em banho de água termostaticado, por 30 min com agitação constante. Após a filtração em papel de filtro Whatman nº 5, os sobrenadantes obtidos foram armazenados em tubos de ensaio com rosca a 0°C para análises posteriores.

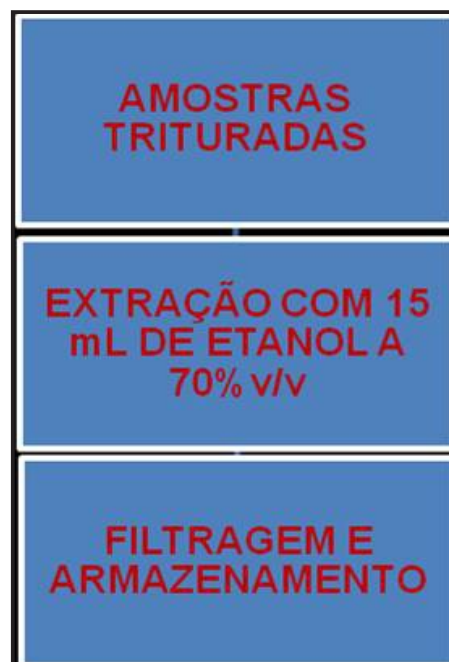


Figura 3. Fluxograma para obtenção dos extratos do pólen apícola

Teor de Fenóis Totais

O método de Folin-Ciocalteu foi usado para determinar o conteúdo total de fenóis das amostras de pólen (SINGLETON, JOSEPH, ROSSI, 1965). Uma alíquota de 0,5 mL de cada amostra foi adicionada com 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Germany) diluído em água destilada 1:10 (v/v). Então, 2,0 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 4% (p/v) foi adicionado. Depois da incubação à temperatura ambiente por 2 h, a absorbância da mistura reacional foi medida a 760 nm (Biomate Spectrophotometer) contra um branco nas mesmas condições. Ácido gálico (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Germany) foi usado como um padrão para produzir a curva de calibração. A média de três leituras foi usada e o teor total de fenóis foi expresso em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de pólen apícola.

Conteúdo de Flavonoides

O teor de flavonoides totais foi determinado usando o método de Park et al. (1995) com adaptações. Uma alíquota de 0,5 mL de extrato etanólico de Pólen (EEP) diluída em água (1:10 v/v) foi adicionada a 4,3 mL de etanol a 80% (v/v),

0,1 mL de nitrato de alumínio a 10% (m/v) e 0,1 mL de acetato de potássio a 10% (m/v). Depois da incubação a temperatura ambiente por 40 min, a absorbância da mistura reacional foi medida a 415 nm (Biomate Spectrophotometer) contra um branco nas mesmas condições, sem nitrato de alumínio. O conteúdo total de flavonoides foi determinado usando uma curva de calibração tendo a quercetina como padrão. A média de três leituras foi usada e expressa como mg de Equivalentes de quercetina (EQ)/g de pólen.

Atividade Antioxidante

A atividade antirradical livre das amostras de pólen foi medida através do método do DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) (Figura 4).

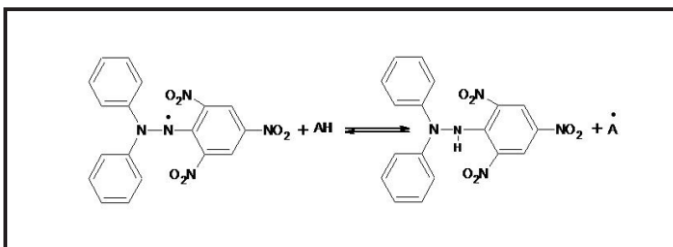


Figura 4. Reação do DPPH

A atividade de sequestro de radical das amostras de pólen na presença do radical livre DPPH (95%, Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Germany), foi determinada espectrofotometricamente (Biomate Spectrophotometer). Em um frasco foram colocados 3,9 mL de uma solução do radical livre DPPH com a concentração de $6,5 \times 10^{-5}$ M em metanol. Depois foi adicionado 0,1 mL de uma solução metanólica da amostra a ser testada na concentração de 0,1 g/mL. Depois de 15 min de incubação, a absorbância foi lida a 517 nm contra um branco de água/metanol (1:1). Ácido ascórbico foi usado como controle positivo. A atividade anti-radical livre foi calculada como segue: % Inibição = [(absorbância do branco-absorbância da amostra)/absorbância do branco] x 100. A média de três leituras para cada amostra de pólen foi determinada graficamente

(BRAND-WILLIAMS, CUVELIER, BERST, 1995; CARPES et al., 2008; CARPES et al., 2009).

Atividade de Inibição da Enzima Acetilcolinesterase

O ensaio da atividade antiacetilcolinesterase foi baseado no método de Ellman et al. (1961) adaptado por Rhee et al. (2001), conforme reações abaixo descritas (Figuras 5 e 6). Amostras de 1,5 a 2,5 mL foram aplicadas a placa de Cromatografia de Camada Delgada (DC-Alufolien, Sílica gel 60 F254, 0,2 mm Merck). A placa foi borrifada com as soluções: Ácido 5,5' – Ditiobis-2,2'-nitrobenzóico, 1mM (DTNB ou Reagente de Ellman) e Iodeto de Acetilcolina 1 mM (ACTI), e então foi deixada em repouso por 3 min. Depois da secagem, a placa foi borrifada com 3 U enzima / mL, e depois de 10 min, uma cor amarela surgiu. Onde ocorreu inibição da enzima, houve a formação de um halo branco. O alcaloide fisostigmina foi usado como con trole.

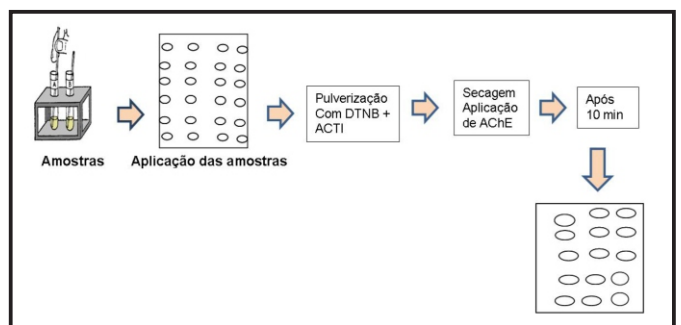


Figura 5. Fluxograma do método de inibição da enzima acetilcolinesterase

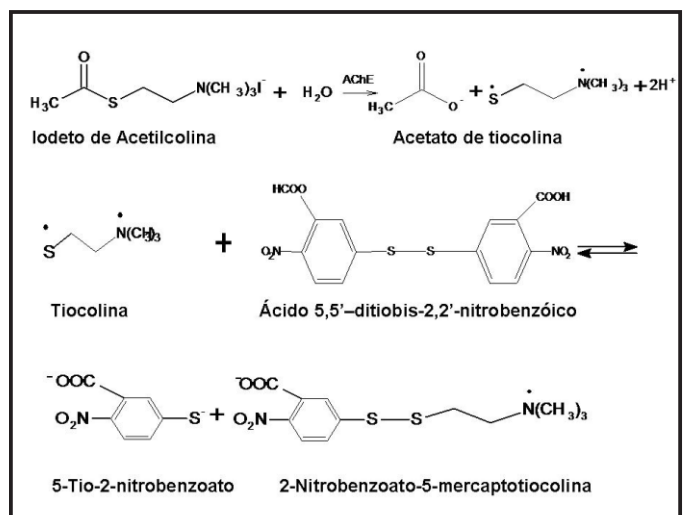


Figura 6: Reação do Teste de Ellman (Ellman et al., 1961) modificado por Rhee (Rhee et al., 2001).

Análise Estatística

Os resultados apresentados nesse trabalho correspondem à média de três repetições e relativo desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fitoquímicos estão entre os mais importantes componentes dos alimentos funcionais. Compostos fenólicos são alguns dos únicos materiais biológicos ativos no pólen apícola. O conteúdo total de fenóis nas amostras do Ceará variou de 17,791 a 19,897mg EAG/g de pólen; a amostra do Rio Grande do Norte apresentou um teor de fenóis de 27,085 mg EAG/g de pólen, e as do Rio Grande do Sul apresentaram os valores 42,831e 43,023 mg EAG/g de pólen, como determinado usando a curva padrão do ácido gálico ($R^2 = 0.9912$). O maior valor para amostras do Ceará foi observado para uma amostra de pólen apícola heterofloral (AH2-CE) seguida pela amostra monofloral de *cocos nucifera* (AM-CE). Carpes et al. (2008) encontrou valores de compostos fenólicos variando de 19,28 a 43,24 mg EAG/g para amostras de pólen apícola do Rio Grande do Sul. A amostra monofloral de pólen do Rio Grande do Norte avaliada nesse trabalho apresentou 27,085 mg EAG/g.

O teor total de flavonoides das amostras estudadas variou de 6,733 a 8,258 mg EQ/g para as amostras do Ceará, 9,658 mg EQ/g para a amostra do Rio Grande do Norte e 15,145a 16,401 mg EQ/g para as amostras do Rio Grande do Sul usando a curva padrão da Quercetina ($R^2 = 0.9995$) (Tabela 1). Entre as amostras de pólen apícola do estado do Ceará o maior valor foi para a amostra heterofloral AH1-CE seguida pela AH2-CE. Para as amostras do Rio Grande do Sul o maior valor de flavonoides foi o da amostra AH1 seguida pela amostra AH2, ambas heteroflorais. A grande diversidade de vegetação no Rio Grande do Sul talvez seja responsável pelos altos valores observados tanto para o teor total de fenóis como para o total de flavonoides. As amostras de pólen apícola do Ceará vêm de uma região

produtora de cocos e de áreas de vegetação típica de mangue, já que a região está inserida na costa do Ceará. Carpes et al. (2008) encontrou para as amostras de pólen apícola do Sul do Brasil valores de flavonoides que variaram de 2,10 a 23,19 mg EQ/g.

O método Folin-Ciocalteu é rápido para avaliação de amostras de pólen porque o pólen apícola contém muitas espécies de compostos fenólicos (SERRA BONVEHÍ, SOLIVA TORRENTÓ, CENTELLES LORENTE, 2001). A composição fenólica do pólen consiste principalmente de flavonóis e de ácidos hidroxicinâmicos (CAMPOS et al., 2003). Essa composição tende a ser específica da espécie (CAMPOS et al., 2003; ALMARAZ-ABARCA et al., 2004; LEJA et al., 2007; CAMPOS et al., 2008), e tem sido relacionada às propriedades terapêuticas como por exemplo a atividade antioxidante do pólen (CAMPOS et al., 2003).

Tabela 1
Teor de flavonoides, teor de fenóis totais, atividade antioxidante (RSA) e inibição da acetilcolinesterase (ACHE) em amostras comerciais de pólen apícola brasileiras.

| Amostras | Flavonoides (mg EQ/g) | Fenóis Totais (mg EAG/g) | RSA (mg/mL) | Inibição da ACHE (mm) |
|--------------|-----------------------|--------------------------|-------------|-----------------------|
| AM-CE | 6,733±0,21 | 18,004±0,30 | 4,483±0,16 | 9,0 |
| AH1-CE | 8,258±0,24 | 19,521±0,17 | 3,930±0,16 | 8,0 |
| AH2-CE | 6,909±0,13 | 17,791±0,14 | 5,611±0,18 | 9,0 |
| AH3-CE | 6,875±0,18 | 19,897±0,12 | 0,182±0,22 | 6,0 |
| AH1-RS | 16,401±0,21 | 42,831±0,38 | 0,194±0,02 | 1,0 |
| AH2-RS | 15,145±0,36 | 43,023±0,63 | 0,351±0,04 | 9,0 |
| AH1-RN | 9,658±0,27 | 27,085±0,81 | 0,134±0,14 | 6,0 |
| Fisostigmina | | | | 9,0 |

AM-CE = Amostra Ceará Monofloral (*cocos nucifera*); AH1-CE = Amostra Ceará Heterofloral 1; AH2 = Amostra Ceará Heterofloral 2; AH3 = Amostra Ceará Heterofloral 3; AH1-RS = Amostra Rio Grande do Sul Heterofloral 1; AH2-RS = Amostra Rio Grande do Sul Heterofloral 2; AH1-RN = Amostra Rio Grande do Norte monofloral 1

A atividade antioxidante foi expressa como IC_{50} , Concentração Inibitória Mínima necessária para que o antioxidante reduza em 50% o radical DPPH inicial da reação no tempo em que o extrato atingiu a estabilidade. Ao menor valor obtido na atividade de sequestro do Radical Livre (RSA) corresponde a maior capacidade antioxidante da amostra. Os resultados da análise da atividade de sequestro do radical livre das amostras de pólen apícola

do Ceará variaram de 0,182 a 5,611 mg/mL. O melhor valor de IC_{50} pelo DPPH entre as amostras cearenses de pólen apícola 0,182 mg/mL foi encontrado para a amostra AH3-CE. Para a amostra do Rio Grande do Norte o valor de IC_{50} foi ainda melhor que o encontrado para a amostra AH3-CE sendo de 0,134 mg/mL e para as amostras do Rio Grande do Sul os valores de IC_{50} variaram de 0,194 a 0,351 mg/mL. O melhor valor obtido no teste do DPPH para as amostras oriundas do Rio Grande do Sul foi encontrado para a amostra AH1-RS, ou seja 0,194 mg/mL. Os valores de IC_{50} para o ácido ascórbico e o BHT (um antioxidante sintético) foi 0,255 mg/mL e 0,307 mg/mL respectivamente.

Portanto, algumas amostras de pólen apícola analisadas apresentaram maior atividade antioxidante que as dos dois compostos antioxidantes conhecidos. Carpes et al. (2008) analisou 36 amostras da região Sul do Brasil, sendo 16 do estado do Paraná, 10 do estado de Santa Catarina e 10 do estado do Rio Grande do Sul. Ao comparar os resultados obtidos nas análises das amostras de pólen apícola estudadas, esses autores encontraram que o pólen apícola do Rio Grande do Sul apresentou atividade antioxidante estatisticamente igual ao antioxidante α -tocoferol e superior aos sintéticos BHT e BHA. Entretanto eles observaram que o pólen apícola de Santa Catarina apresentou atividade antioxidante maior que o BHT e igual ao BHA.

As atividades biológicas, de oito amostras de pólen apícola comercializadas em Portugal, foram avaliadas por Pascoal et al. (2014). Além de amostras de Portugal havia também amostra da Espanha e outra de origem não identificada.

Usando o método de Folin-Ciocalteu foram encontrados valores de fenóis totais variando de $18,55 \pm 0,095$ a $32,15 \pm 2,12$ mg EAG/g de pólen. Quanto ao teor de flavonoides variaram de $3,92 \pm 0,68$ a $10,14 \pm 1,57$ mg EQ/g. Os valores encontrados para as atividades antioxidantes estavam de acordo com os valores de fenóis totais

encontrados nas amostras analisadas.

Também usando o método de Folin-Ciocalteu, Morais et al. (2011) analisaram amostras heteroflorais de pólen apícola de diferentes parques portugueses encontrando valores de fenóis totais de 10,5 mg de EAG/g para a amostra do Parque Natural do Montesinho e de 16,8 mg de EAG/g para a amostra do Parque Natural do Douro. Quanto às atividades antioxidantes obtidas pelo teste do DPPH a amostra do Parque Natural do Montesinho apresentou o valor de 2,16 mg/mL e para a amostra do Parque Nacional do Douro o valor foi de 2,24 mg/mL.

No entanto, Mărghitas et al. (2009) ao estudar 12 amostras de pólen apícola da România, usando também o método de Folin-Ciocalteu para determinações de fenóis totais e o método do DPPH para a atividade antioxidante, observaram uma grande variabilidade entre esta e o conteúdo de polifenóis de amostras coletadas pelas abelhas de diferentes origens florais, não encontrando correlação entre os resultados.

De acordo com Campos et al. (2003) a atividade antioxidante do pólen é principalmente função dos compostos fenólicos e flavonoides presentes que apresentam atividade de sequestro de radical livre, embora outros constituintes como proteínas e vitaminas possam contribuir para essa propriedade. Esses autores encontraram valores de IC_{50} variando de 40 a 500 μ g/mL em amostras de pólen apícola coletadas em Portugal e Nova Zelândia. Carpes et al. (2008) encontraram uma boa relação entre a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos e flavonoides totais nas amostras de pólen apícola da região Sul brasileira. Le Blanc et al. (2009) analisando amostras de pólen apícola do Deserto de Sonoran também encontrou uma boa correlação entre atividade antioxidante e fenóis totais.

Vinte e cinco amostras de pólen apícola da cidade de Canavieiras, no estado da Bahia, foram analisadas por Freire et al. (2012) que encontrou

através de HPLC-DAD, os flavonoides isoquercetina, miricetina, tricetina, quercetina, luteolina, selagina, canferol e isoramnetina

O teor de fenóis totais nas amostras de Freire et al. (2012), obtido usando o método de Folin-Ciocalteu variou de 41,5 a 213,2 EAG/g, e as atividades antioxidantes das amostras, obtidas pelo método do DPPH, ABTS e atividade quelante do íon Fe^{2+} foram observadas em todos os extratos e correlacionadas com o conteúdo total de fenóis. Medeiros et al. (2008) avaliaram a propriedade antialérgica do extrato fenólico de pólen apícola e do flavonoide miricetina em ratos sensibilizados com ovalbumina conseguindo resultados animadores principalmente com relação ao flavonoide miricetina.

Kaskoniené et al (2014) analisando quatorze amostras de pólen apícola da região Báltica encontrou valores de 24,1 e 45,5 mg/g e 6,1 a 11,6 mg/g de fenóis totais e flavonoides respectivamente, analisados espectrofotometricamente e expressos como equivalentes de rutina. Quanto à atividade antioxidante medida pelo método do DPPH variou de 7,1 a 39,2 mg/g também expressos como equivalentes de rutina. O coeficiente de correlação encontrado entre os compostos fenólicos e a atividade de sequestro do radical foi de 0,95. Neste trabalho foi usado a cromatografia líquida de alta *performance* com detecção eletroquímica sendo identificados em todas as amostras os seguintes compostos: 2-ácido hidroxicinâmico (43,4 – 179,9 μ g/g), rutina (156,2 – 955,7 μ g/g), e quercetina 24,0 – 529,8 μ g/g). Os flavonoides quercetina e rutina (Figura 7) também foram encontrados por Liberato (2011) nas amostras de produtos apícolas do Ceará.

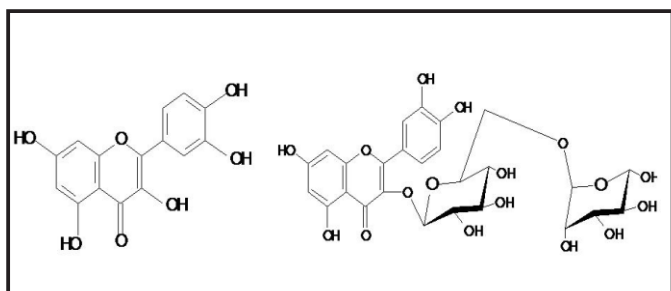


Figura 7: Quercetina (esquerda) e rutina (direita).

É importante frisar, no entanto, que segundo Atoui et al. (2005) resultados similares de teores de fenóis não necessariamente correspondem às mesmas respostas antioxidantes já que o teor de compostos fenólicos encontrados pelo uso do método de Folin-Ciocalteu também depende de suas estruturas químicas.

As amostras de pólen apícola estudadas neste trabalho também foram testadas no ensaio da atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase. Os resultados obtidos apresentaram halos de inibição com tamanhos próximos ou idênticos ao do padrão utilizado no ensaio, o alcaloide fisostigmina. Os resultados estão apresentados na Tabela 1. Blum, (1996) define alimento funcional como aquele alimento ou constituinte do alimento que possa fornecer efeitos benéficos à saúde além dos nutrientes nele contido. Por essa definição e baseando-se nos resultados obtidos é possível incluir-se o pólen apícola como um alimento funcional.

CONCLUSÕES

Sabendo-se que espécies reativas de oxigênio são produzidas pelo metabolismo oxidante, pode-se dizer que o estresse oxidante pode ser encarado como o preço pago pelo uso do oxigênio pelo metabolismo. Tanto as espécies reativas de oxigênio como as espécies reativas de nitrogênio são reativas e tóxicas, muitas vezes difíceis de conter, porém sua produção é importante para a regulação do metabolismo, a renovação de biomoléculas e a proteção contra infecções microbianas. No entanto existem numerosos mecanismos de proteção antioxidante.

Altos valores de Atividade de sequestro de radical livre foram encontrados no extrato etanólico da amostra de pólen apícola oriunda do estado do Rio Grande do Sul, que também apresenta a maior concentração de substâncias fenólicas, bem como, embora em menor proporção, nas amostras de pólen apícola do Rio Grande do Norte e do Ceará

que também apresentaram bons resultados, pode-se dizer que existe uma correlação geral entre o teor total de fenóis e a atividade antioxidante e de sequestro de radical livre das preparações de pólen.

Desta forma, preparações de pólen coletado das flores, pelas abelhas podem, portanto, ser consideradas como suplemento alimentar natural e um alimento funcional devido ao seu conteúdo de substâncias fenólicas, capacidade de sequestro de radicais livres, atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase, e com especial respeito às suas implicações nutricional-fisiológicas o seu efeito promotor de saúde. Pesquisas que tipifiquem o pólen apícola de cada região brasileira padronizando-o de acordo com os constituintes flavonoides e compostos fenólicos tornam-se necessárias para a possível utilização desse produto apícola nas indústrias farmacêutica e de alimentos.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de expressar os sinceros agradecimentos à Universidade Estadual do Ceará, e ao CNPq e FUNCAP pelo suporte financeiro para a realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALMARAZ-ABARCA, N.; CAMPOS, M.G.; ÁVILA-REYES, J.A.; NARANJO-JIMÉNEZ, N.; HERRERA-CORRAL, J.; GONZÁLEZ-VALDEZ, L.S. Antioxidant activity of polyphenol extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, p. 119-124, 2007.

ALMARAZ-ABARCA, N.; CAMPOS, M.G.; ÁVILA-REYES, J.A.; NARANJO-JIMÉNEZ, N.; HERRERA-CORRAL, J.H.; GONZÁLEZ-VALDEZ, L.S. Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. **Interciencia**, v.29, p. 574-578, 2004.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PAMPLONA, L.C.; COIMBRA, S.; BARTH, O.M. Chemical composition

and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, n.1, p.105-111, 2005.

ATOUI, A.K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v.89, p. 27-36, 2005.

BALTRUŠAITYTĖ, V.; VENSKUTONIS, P.R.; ČEKŠTERYTĖ, V. Radical Scavenging Activity of Different Floral Origin Honey and Beebread Phenolic Extracts. **Food Chemistry**, v.101, p.502-514, 2007.

BAYNES, J.W.; DOMONICZAK, M.H. **Bioquímica Médica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, 653p.

BETTELHEIM, F.A.; BROWN, W.H.; CAMPBELL, M.K.; FARREL, S.O. **Introdução à Bioquímica**. São Paulo: Cengage Learning, 2012, 781p.

BLUM, M. Designing foods for better health. **International Food Ingredients**, v.3, p.25-29, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERST, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LebensmittelWissenschaft Und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

BREYER, E.U. **O pólen apícola**. Disponível em: <<http://breyer.ind.br/apicultura/apiculturapolen.htm>>. Acesso em: 20 de set. 2010.

BROOKMEYER, R.; GRAY, S.; KAWAS, C. Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. **American Journal of Public Health**, v.88, p.1337-1342, 1998.

CAMPOS, M.G.R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. de; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; FRIGERIO, C.; FERREIRA, F. Pollen composition and standardisation of analytical methods. **Journal of Apicultural Research and Bee World**, v.47, n.2, p.156 – 163, 2008.

CAMPOS, M.G.; WEBBY, R.F.; MARKHAM, K.R.; MITCHELL K.A. e DA CUNHA, A.P. Age induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.742-745, 2003.

- CARPES, S. T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.6, 2007.
- CARPES, S. T.; MOURÃO, G. B.; ALENCAR, S. M. de; MASSON, M. L. Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* L. bee pollen from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.12, n.14, p.220-229, 2009.
- CARPES, S.T.; PRADO, A.; MORENO, I.A.M.; MOURÃO, G.B.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M.L. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na região sul do Brasil. **Química Nova**, v.31, n.7, p.1660-1664, 2008.
- EBLY, E.M.; PARHAD, I.M.; HOGAN, D.B.; FUNG, T.S. Prevalence and types of dementia in the very old: results from the Canadian Study of Health and Aging. **Neurology**, v.44, p.1593-1600, 1994.
- ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D.; ANDRES JR., V.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v.7, n.2, p.88-90, 1961.
- FREIRE, K.R.L.; LINS, A.C.S.; DÓREA, M.C.; SANTOS, F.A.R.; CAMARA, C.A.; SILVA, T.M.S. Palynological Origin, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Honeybee-Collected Pollen from Bahia, Brazil. **Molecules**, v.17, n.2, p.1652-1664, 2012.
- GEORGE, N.M.; CUTTING, K.F. Antibacterial honey (Medihoney™): in-vitro activity against clinical isolates of MRSA, VRE, and other multiresistant gram-negative organisms including *Pseudomonas aeruginosa*. **Wounds**, v.19, p.231-236, 2007.
- GÓMEZ-CARAVACA, A.M.; GÓMEZ-ROMERO, M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, p.1220-1234, 2006.
- HENDERSON, A. S.; JORM, A. F. Dementia in Australia. Aged and Community Care Service Development and Evaluation Reports, Canberra: Commonwealth of Australia. n.35, 1998.
- ISMAIL, A-H. M.; OWAYSS, A.A.; MOHANNY, K.M.; SALEM, R.A. Evaluation of pollen collected by honey bee, *Apis mellifera* L. colonies at Fayoum Governorate, Egypt. Part 1: Botanical origin. **Journal of the Saudi Society of Agriculture Sciences**, v.12, p.129-135, 2013.
- KASKONIENÉ, V.; RUOCKUVIENÉ, G.; KASKONAS, P.; AKUNECA, I.; MARUSKA, A. Chemometric Analysis of Bee Pollen Based on Volatile and Phenolic Compound Compositions and Antioxidant Properties. **Food Analytical Methods**, v.8, n.5, p.1150-1163, 2014.
- KROYER, G.; HEGEDUS, N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. **Innovative Food Science & Emerging Technology**, v.2, p.171-174, 2001.
- LeBLANC, B.W.; DAVIS, O.K.; BOUE, S.; DeLUCCA, A.; DEEBY, T. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. **Food Chemistry**, v.115, n.4, p.1299-1305, 2009.
- LEJA, M.; MARECZEK, A.; WYZGOLIK, G.; KLEPACZ-BANIAK, J.; CZEKONSKA, K. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. **Food Chemistry**, v.100, n.1, p.237-240, 2007.
- LIBERATO, M. C. T. C. 2011. **Estudo químico e bioprospecção de produtos da abelha *Apis mellifera* L. do Estado do Ceará** – Fortaleza, 2011. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Estadual do Ceará. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia. 2011. 232p.
- MARCHINI, L.C.; REIS, V.D.A. dos; MORETI, A.C. de C.C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. **Ciência Rural**, v.36, n.3, 2006.
- MĂRGHITAS, L.A.; STANCIU, O.G.; DEZMIREAN, D.S.; BOBIS, O.; POPESCU, O.; BOGDANOV, S.; CAMPOS, M.G. In vitro antioxidant capacity of

of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. **Food Chemistry**, v.115, n.3, p.878–883, 2009.

MEDEIROS, K.C.P.; FIGUEIREDO, C.A.V.; FIGUEREDO, T.B.; FREIRE, K.R.L.; SANTOS, F.A.R.; ALCANTARA-NEVES, N.M.; SILVA, T.M.S.; PIUVEZAM, M.R. Anti-allergic effect of bee pollen phenolic extract and myricetin in ovalbumin-sensitized mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.119; n.2, p.41-46, 2008.

MORAIS, S. M. Antioxidantes Naturais. In: SELENE MAIA de MORAIS, RAIMUNDO BRAZ-FILHO (Organizadores). **Produtos Naturais – Estudos Químicos e Biológicos**. Fortaleza: EdUECE, p. 123 – 148, 2007, 238p.

MORAIS, M.; MOREIRA, L.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L.M. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. **Food and Chemical Toxicology**, v.49, n.5, p.1096-1101, 2011.

MOURA, J.; PEGORARO, A. Produção de pólen apícola com coletor nos horários de disponibilidade de alimento no pico da florada da bracatinga (*Mimosa scabrella*). **Scientia Agraria**, v.7, n.1-2, p.97-100, 2006.

NAKAJIMA, Y.; TSURUMA, K.; SHIMAZAWA, M.; MISHIMA, S.; HARA, H. Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.9, n.4, 2009.

PASCOAL, A.; RODRIGUES, S.; TEIXEIRA, A.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, M. L. Biological activities of commercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. **Food and Chemical Toxicology**, v.63, p.233-239, 2014.

PARK, Y.K.; KOO, M.H.; SATO, H.H.; CONTADO, J.L. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* L. no Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.38, n.4, p.1235-59, 1995.

RHEE, I. K.; MEENT, M.; INGGANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography A**, v.915, p.217-223, 2001.

SERRA-BONVEHÍ, J.; SOLIVA TORRENTÓ, M.; CENTELLES-LORENTE, E. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 1843-1853, 2001.

SINGLETON, V. L.; JOSEPH, A.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

SOMERVILLE, D.C.; NICOL, H.I. Crude protein and amino acid composition of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia and a note on laboratory disparity. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.46, p.141-49, 2006.

Avaliação de método de neutralização dos ácidos graxos livres presentes em óleos vegetais como pré-tratamento para síntese de biodiesel por transesterificação alcalina

Evaluation of a procedure for neutralization of free fatty acids in vegetable oils as pre-treatment step for biodiesel synthesis via alkaline transesterification

Isabel Matos Fraga, Beatriz Freire Penha, Eduardo Dias Maia, Emerson de Oliveira Figueiredo, Cleyton Souza Pereira, Demétrio de Abreu Sousa, Danilo Morais Itokagi.

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

*[*isabel.fraga@cas.ifmt.edu.br](mailto:isabel.fraga@cas.ifmt.edu.br)*

Submetido em 15/06/2015; Versão revisada em 09/08/2015; Aceito em 13/08/2015

Resumo

O presente estudo objetivou a avaliação da eficácia de um método de neutralização da acidez em óleos com índice de acidez maior que 1,4 mg KOH/g, independente de sua origem, a fim de torná-los matérias-primas aptas para a síntese de biodiesel por transesterificação alcalina. O método de neutralização avaliado se baseia no uso de um álcali para neutralização dos ácidos graxos livres e de glicerina para separação de fases. A quantidade do álcali utilizada é determinada a partir do índice de acidez do óleo bruto e a quantidade de glicerina a partir da massa de óleo bruto que se deseja neutralizar. Foram testados cinco óleos vegetais (nim, pequi, tucumã, azeite e crambe) e a redução do índice de acidez foi, em média, de 84,36%. O método avaliado apresentou resultados significativos ($p < 0,05$) para redução do índice de acidez com resultados menores que 1,43 mg KOH/g.

Palavras-chave: validação, método de neutralização, acidez, óleo.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of a neutralization process in reducing acidity of high-acid-content oils so that these raw materials become suitable for the alkali transesterification reaction, which is carried out to obtain biodiesel. The method of neutralization is based on the use of an alkali to neutralize free fatty acids with following use of glycerine in order to separate the phases. The amount of alkali necessary to use in the process was obtained previously from the acidity index determined by titration. And the amount of glycerine was determined accordingly to the amount of the high-acid-content oil that would be neutralized. Five different oils were selected to undergo the neutralization process (nim, tucumã, pequi, olive and crambe). The percentage of acidity reduction was averaged over these five oils and the mean was 84,36%. A paired t-test has shown that the employed neutralization method significantly decreases the acidity indexes, which reached values lower than 1,4 mg KOH/g.

Keywords: neutralization, validation, acidity, oil.

INTRODUÇÃO

Óleos vegetais são fontes de recursos renováveis que, em sua maioria são biocompatíveis e não tóxicos, seus preços são relativamente baixos e apresentam uma estrutura química, até certo ponto, bastante controlada (são basicamente triacilglicerídeos) (MORAIS et al., 2013). As cadeias hidrocarbônicas dos glicerídeos que constituem os óleos e gorduras têm tipicamente entre 14 e 20 átomos de carbono (UMPIERRE e MACHADO, 2013).

Uma fonte oleaginosa costuma ter mais de 10 ácidos graxos diferentes, os quais se encontram randomicamente ligados à glicerina. Ou seja, nos óleos e gorduras existe uma quantidade muito grande de derivados de ácidos graxos. Assim, como um óleo ou gordura é uma mistura complexa de uma quantidade muito grande de moléculas, é comum expressar a sua composição química em função dos ácidos graxos presentes e não dos compostos químicos efetivamente presentes na mistura (RAMALHO e SUAREZ, 2013).

Nos dias atuais, os óleos e gorduras são largamente usados na indústria alimentícia, seja como ingrediente ou como meio para o processo de fritura. Deve-se destacar que atualmente a maior parte da produção mundial de óleos está relacionada com a produção de alimento (MARTINS, MELLO e SUAREZ, 2013).

Quando um óleo é submetido a uma temperatura mais alta ocorrem reações de hidrólise e degradação térmica dos triacilglicerídeos, aumentando a acidez do produto (maior teor de ácidos graxos livres) (RAMALHO e SUAREZ, 2013). Enquanto que um alto grau de saturação das cadeias (gorduras) aumenta a interação das moléculas e dificulta a fluidez do material, ele diminui a sua suscetibilidade à oxidação. Já para materiais com alto grau de insaturação (óleos), a baixa interação entre as cadeias aumenta a fluidez, porém diminui a sua estabilidade oxidativa (PINHO e SUAREZ, 2013).

Caso a temperatura seja superior a 200 °C, os compostos gerados com baixo número de carbono geram vapores suficientes para iniciar a combustão dos mesmos, o que é conhecido na literatura como *flash point*. As reações de degradação dos óleos e gorduras, durante o processo de fritura ou aquecimento são limitações a esta prática, pois os compostos oxigenados formados são geralmente associados a problemas de saúde (MARTINS, MELLO e SUAREZ, 2013).

A sociedade moderna gera diversos materiais graxos residuais. As agroindústrias geram resíduos graxos decorrentes do processamento de carnes ou fabricação de alimentos e extração e purificação de óleos e gorduras (OGs), além de enormes quantidades de óleos e gorduras residuais (OGRs) geradas em residências e restaurantes. Um exemplo disso são os OGRs produzidos durante o processo de fritura (MONTENEGRO et al., 2013).

O processo de extração de óleos ou gorduras vegetais pode ser realizado a partir de prensas ou extração por solvente. A extração de óleos utilizando solventes é realizada em equipamento de soxhlet. Na extração por solvente, o hexano é preferido por apresentar várias vantagens. A principal delas é o seu baixo ponto de ebulição que diminui a decomposição do óleo. Por outro lado, as suas desvantagens são a alta inflamabilidade e o alto custo. As plantas industriais modernas de extração por solvente operam em regime contínuo (RAMALHO e SUAREZ, 2013). Esse processo é bastante utilizado em oleaginosas com baixo teor graxo, como é o caso da soja e algodão.

Atualmente pesquisadores, técnicos e, mesmo, a sociedade em geral se depara com a necessidade premente de se encontrar fontes de energia que substituam parcial ou totalmente as formas consideradas pouco limpas e oriundas de recursos não renováveis. Dentro dessa gama de alternativas, para satisfazer a forte demanda de energia de nossa sociedade, muitos países estão desenvolvendo e apoiando programas de produção

e uso de biodiesel como uma alternativa energética sustentável, gerando impactos positivos em termos ambientais e econômicos (MENEGETTI, MENEGETTI e BRITO, 2013).

A principal matéria-prima utilizada para a produção de biodiesel são os óleos e gorduras, vegetais e animais. A principal rota de produção de biodiesel é a reação de transesterificação, que ocorre entre um mol de óleo e três mols de álcool, impulsionada por um catalisador, que pode ser ácido ou básico. A reação de transesterificação tem como função, inverter as funções éster e álcool entre as cadeias longas dos glicerídeos e do álcool reativo. A transesterificação de óleos e gorduras através de etanol ou metanol é a principal reação para produção de biodiesel atualmente (UMPIERRE e MACHADO, 2013).

Apesar da estequiometria geral da equação requerer três mols do álcool para cada mol de triacilglicerídeo, a reversibilidade das reações envolvidas faz com que seja necessário o emprego de um excesso de álcool no meio de reação para promover um aumento no rendimento em ésteres (MENEGETTI, MENEGETTI e BRITO, 2013).

Tanto o processo de extração quanto o processo de armazenamento das sementes e do óleo extraído podem ocasionar oxidação nas cadeias dos óleos, ocorrendo à liberação de ácidos graxos livres, esses provocam o aumento da acidez do óleo. Um óleo com elevada acidez, quando submetido a reação de transesterificação alcalina para produção de biodiesel, provavelmente irá saponificar, ou seja, formará sabão. Ainda que represente a rota tecnológica mais viável e imediata, a transesterificação alcalina apresenta o inconveniente de gerar sabões durante a reação, seja pela neutralização dos ácidos graxos, seja pela saponificação dos glicerídeos e/ou ésteres monoalquílicos formados (PAIVA, 2010).

Essa saponificação, além de causar consumo de catalisador, é inconveniente, pois dá origem à formação de emulsões, fato esse que dificulta a

purificação do biodiesel (separação dos ésteres e glicerina) ao final da reação. A presença de água, formada durante a reação ou presente nas matérias-primas, conduz à hidrólise dos ésteres presentes (triacilgliceróis, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e monoésteres) conduzindo à formação de ácidos graxos livres e a consequente saponificação desses, como mencionado anteriormente (CLEMENTS e HANNA, 1998; LIU, 1994 apud MENEGETTI, MENEGETTI e BRITO, 2013).

A acidez livre de uma gordura decorre da hidrólise parcial dos glicerídeos, por isso não é uma constante ou característica, mas é uma variável intimamente relacionada com a natureza e a qualidade da matéria prima, com a qualidade e o grau de pureza da gordura, com o processamento e principalmente, com as condições de conservação da gordura (MORETTO e FETT, 1998).

A acidez do óleo é uma característica pouco influenciada pelas características genéticas da planta, mas principalmente, pelo tratamento que a semente recebe após a colheita. Sementes quebradas ou armazenadas sob altas temperatura e umidade são as condições mais propícias ao aumento da acidez do óleo (ARAÚJO et al., 2006).

Para se produzir um biodiesel de qualidade, dentro das especificações da ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) a partir de óleos de elevada acidez, o processo de transesterificação utilizando catalisadores básicos pode ser utilizado, no entanto, apresenta baixos rendimentos e requer altos tempos de reação.

Uma alternativa simples e barata para contornar essa limitação e possibilitar a utilização de óleos de alta acidez para produção de biodiesel por transesterificação alcalina é o processo prévio de neutralização da acidez do óleo, onde o óleo reage com uma solução aquosa de hidróxido de sódio para neutralização de seus ácidos graxos livres (MORETTO e FETT, 1998). O óleo resultante desse processo é denominado de óleo neutralizado.

Segundo Araújo et al. (2007), óleos e gorduras devem conter no máximo uma acidez de 1 mg KOH/g para que atenda a acidez normalizada pela ANP de 0,5 mg KOH/g para Biodiesel.

Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de um método de neutralização de ácidos graxos livres em diferentes óleos com índice de acidez maior que 1,4 mg KOH/g. O método de neutralização avaliado se baseia no uso de solução aquosa de um álcali para neutralização dos ácidos graxos livres e de glicerina para separação de fases. Este método se diferencia dos métodos tradicionais por: (1) determinar previamente a quantidade de solução alcalina de acordo com o parâmetro do índice de acidez do óleo testado; (2) usar glicerina para separação de fases e (3) determinar a quantidade de glicerina usada a partir da a massa do óleo a ser neutralizada. O processo de neutralização de óleos é importante pois torna a matéria-prima adequada para a produção de biodiesel.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção da matéria-prima

Para avaliação da eficácia do método de neutralização, foram selecionados óleos com potencial de uso para produção de biodiesel e que apresentassem índice de acidez maior que 1,4 mg KOH/g. Assim, foram selecionados óleo de Cambre (*Crambe abyssinica* Hochst), óleo de Nim (*Azadirachta indica a. Juss*), óleo de Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess), óleo de Tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) e azeite de Oliva (*Olea europaea* L.).

Determinação do índice de acidez (IA)

A análise de IA para cada óleo foi realizada em triplicata e aplicada nas triplicatas de amostras selecionadas, antes e após o tratamento de neutralização. O IA foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Moretto e Fett (1998), que

define índice de acidez como o número de miligrama de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos livres de um grama de amostra de óleo. Resumidamente, adicionou-se 2,0 g de óleo em um erlenmeyer e em seguida 25 mL de solução de éter etílico:etanol (2:1), agitou-se vigorosamente e foram adicionadas 2 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1%, e, por fim, titulou-se com solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N até viragem do indicador de incolor para uma tonalidade rósea. O cálculo da acidez é determinado pela equação 1.

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

Onde, IA é o índice de acidez, F é o fator de correção da solução de NaOH, V é o volume de NaOH gasto para titular a amostra, 5,61 é o equivalente grama do KOH e P é o número de gramas da amostra.

Neutralização dos ácidos graxos livres presentes no óleo bruto

Para avaliação da eficácia do método de neutralização proposto, foram retiradas três amostras de cada um dos cinco óleos selecionados, totalizando 15 amostras. Após obtenção do índice de acidez inicial dos óleos brutos, todas as amostras foram submetidas ao processo de neutralização de seus ácidos graxos livres.

Para a etapa de neutralização, primeiramente é determinada a quantidade de hidróxido de potássio (KOH) necessária para a neutralização da acidez do óleo bruto, calculada por meio da equação 2.

$$X = IA \times \frac{M}{1g} \quad (2)$$

Onde, IA é o valor encontrado do Índice de Acidez inicial do óleo bruto em mg do óleo bruto, M é a massa, em gramas, de óleo arbitrada (no caso

desse estudo, 150g) para neutralização e X é a quantidade de KOH, em mg, que será utilizado para a neutralização (RAMALHO e SUAREZ, 2013; MORETTO e FETT, 1998).

Após determinada a quantidade de KOH para a neutralização, a mesma foi pesada e solubilizada em quantidade de água destilada suficiente para diluição total dos grânulos de KOH. Uma grande adição de água ao processo pode interferir aumentando a formação de sabões (MORETTO e FETT, 1998). Também foi calculada a quantidade de glicerina a ser adicionada ao processo, que deve ser em torno de 30% em relação a massa de óleo adicionada, está tem a função de facilitar a separação de fases entre óleo e sabões formados no meio reacional.

A reação de neutralização foi iniciada retirando-se alíquotas de 150 g de cada óleo em triplicata (n = 15). Cada amostra de óleo foi conduzida ao aquecimento e agitação, até que fosse atingida a temperatura de 90°C. Após atingir essa temperatura, foram adicionados ao óleo aquecido, o KOH previamente diluído e a glicerina anteriormente separada. A mistura permaneceu a temperatura constante de 90°C e agitação constante durante 30 min.

Transcorrido esse tempo, a mistura foi vertida em funil de separação para separação das fases óleo (superior) e fase sabões e glicerina (inferior). Posteriormente o óleo obtido foi lavado três vezes com 15 mL de água destilada a 90°C e 15 mL de solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), a fim da completa retirada de sabões e glicerina residual. Posteriormente, o óleo neutralizado foi desumidificado sob agitação constante à uma temperatura de 110 °C, durante 30 min. Por fim, o óleo neutralizado foi filtrado em papel de filtro com Sulfato de sódio (Na₂SO₄) anidro para retirada de qualquer resquício de umidade.

Ao final de todo o processo de neutralização, todas as 15 amostras neutralizadas foram avaliadas, quanto a seu IA para verificação da eficiência da

metodologia. Essa determinação do índice de acidez foi feita em triplicata, totalizando 45 análises. Para validação da metodologia de neutralização utilizada nesse estudo, os IA das 15 amostras antes e depois da neutralização foram submetidos ao teste t pareado, com 5% de significância, para determinar se o método de neutralização é eficaz, independente da origem do óleo bruto. Também foi determinado um intervalo de confiança para as análises.

RESULTADO E DISCUSSÃO

O índice de acidez é definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio (KOH) necessários para neutralizar os ácidos livres de um grama de gordura. A acidez livre de uma gordura decorre da hidrólise parcial dos glicerídeos, por isso não é uma constante ou característica, mas é uma variável intimamente relacionada com a natureza e a qualidade da matéria prima, com a qualidade e o grau de pureza da gordura, com o processamento e principalmente, com as condições de conservação da gordura. (MORETTO e FETT, 1998).

O KOH utilizado na etapa de neutralização reage com os ácidos graxos livres do óleo bruto formando sabões. Ao final do processo, a mistura é deixada em repouso para separação das fases óleo neutralizado e sabão, que nas indústrias é realizada por meio de centrifugação (RAMALHO e SUAREZ, 2013). Neste trabalho, a separação de fases foi forçada com a adição de glicerina no início do processo. O processo de lavagem com água destilada a 90 °C e solução saturada de NaCl tem como finalidade a retirada dos sabões remanescentes, a fim de desfazer uma possível emulsão.

Os dados da média do IA de cada amostra (n=15) de óleo bruto e do óleo neutralizado foram submetidos ao teste t pareado a 5 % de nível de significância, utilizando um grau de liberdade n – 1. A tabela 1 apresenta os resultados das análises do índice de acidez médio de cada óleo analisado antes

Tabela 1
Resultados das análises de índice de acidez médio
(\bar{IA}) para os óleos antes e após o processo de neutralização.

| Amostras | IA óleo bruto (mg KOH g⁻¹) | IA óleo neutralizado (mg KOH g⁻¹) | Redução média do IA (%) |
|-------------------------------------|--|---|------------------------------------|
| Azeite | | | |
| amostra 1 | 2,01±0,01 | 0,24±0,01 | 88,06 |
| amostra 2 | 2,01±0,01 | 0,41±0,05 | 79,60 |
| amostra 3 | 2,01±0,11 | 0,45±0,13 | 77,61 |
| Pequi | | | |
| amostra 1 | 1,5±0,01 | 0,25±0,01 | 83,33 |
| amostra 2 | 1,5±0,01 | 0,26±0,02 | 82,67 |
| amostra 3 | 1,5±0,01 | 0,38±0,03 | 74,60 |
| Nim | | | |
| amostra 1 | 2,51±0,01 | 0,28±0,05 | 88,84 |
| amostra 2 | 2,51±0,01 | 0,62±0,13 | 75,30 |
| amostra 3 | 2,51±0,01 | 0,28±0,07 | 88,84 |
| Tucumã | | | |
| amostra 1 | 11,08±0,01 | 1,25±0,11 | 88,72 |
| amostra 2 | 11,08±0,01 | 1,43±0,08 | 87,09 |
| amostra 3 | 11,08±0,01 | 1,09±0,14 | 90,16 |
| Cambre | | | |
| amostra 1 | 6,92±0,01 | 0,77±0,04 | 88,87 |
| amostra 2 | 6,92±0,01 | 0,75±0,05 | 89,16 |
| amostra 3 | 6,92±0,01 | 0,79±0,07 | 88,58 |
| Desvio padrão das diferenças | | 3,44 | |
| t-tabelado | | 1,76 | |
| t-calculado | | 4,54 | |
| p-valor | | 0,00022 | |

e após o processo de neutralização, bem como a porcentagem de diminuição da acidez em cada amostra após a neutralização.

O método de neutralização proposto é eficiente pois, a acidez dos óleos apresentou uma redução significativa, sendo a menor redução para o óleo de Pequi (74,6%). O melhor resultado obtido foi para o óleo de Tucumã (90,16%). Em média, a acidez diminuiu 84,3% para todos os óleos testados.

Os resultados do teste t pareado, a 5 % de nível de significância e n – 1 graus de liberdade, apresentou t-calculado maior que t-tabelado e p-valor menor que 0,05, ou seja, o método de neutralização proposto nesse estudo provocou

efeitos estatisticamente significativos na redução da acidez dos óleos analisados, independente da origem do óleo. Ou seja, que esses efeitos não ocorreram ao acaso.

Após a determinação do p-valor, o intervalo de confiança foi calculado e o valor encontrado foi de no mínimo 81,35% e máximo 87,29%, o que significa que um possível valor real para a diminuição do índice de acidez em óleos utilizando a metodologia de neutralização apresentada nesse estudo caminha nessa faixa de porcentagem, o que mais uma vez corrobora a eficácia e certeza do método.

O processo de neutralização de óleos vegetais consiste na adição de uma base forte ao

óleo bruto, com o intuito de diminuir ao máximo a quantidade de ácidos graxos livres. A base reage com os ácidos graxos livres convertendo-os em sabão, fazendo com que a reação de produção de biodiesel aconteça somente com os triglicerídeos (ZUMACH et al., 2012).

A adição de solução aquosa de álcalis, tais como, hidróxido de sódio, ou às vezes carbonato de sódio, elimina do óleo os ácidos graxos livres e outros componentes definidos como “impurezas” (proteínas, ácidos oxidados, produtos de decomposição, diglicerídeos). A neutralização ocorre na interfase do óleo e solução alcalina. Sendo essas fases não intersolúveis, a neutralização exige uma dispersão de solução alcalina em óleo. De acordo com o conteúdo de ácido livre no óleo bruto, aplicam-se várias concentrações da solução alcalina e apropriadas condições do processo (MORETTO e FETT, 1998).

Da Silva e Neto (2013), a fim de reduzir acidez dos óleos residuais, avaliaram a influência das variáveis na reação de esterificação do óleo residual, como responsável pela conversão dos AGL em ésteres de metila. Os autores utilizaram o planejamento fatorial fracionado com o intuito de selecionar a melhor condição experimental, promovendo maior redução na acidez do óleo residual. Como resultados, os autores conseguiram reduzir os valores de acidez de óleos residuais que era de 9,5 mg KOH/g para menos de 3 mg de KOH por grama de óleo. No entanto, o processo de esterificação exige o uso de ácidos concentrados e levam pelo menos três para uma boa conversão.

Penha et al. (2014), neutralizaram a partir de método semelhante ao utilizado nesse trabalho, os ácidos graxos livres presente no óleo de pinhão manso bruto de acidez 15,12 mg KOH/g. Ao final do processo o óleo neutralizado teve seu índice de acidez reduzido a 0,58 KOH/g, o que corrobora com o presente trabalho salientando a eficácia do processo de neutralização adotado. Pimenta, Antoniassi e Andrade (2010), também utilizaram a

metodologia semelhante a utilizada no presente trabalho para neutralização do óleo extraído da polpa de macaúba contendo 1,19 g/100g em ácido oléico. Ao final da neutralização o óleo apresentou um índice de acidez de 0,3 g/100g em ácido oléico. Porém, estes autores não avaliaram a eficiência do método de neutralização em função da origem do óleo.

Diante do exposto o processo de neutralização apresentado no presente estudo, apresentou resultados significativos ($p < 0,05$) na redução do índice de acidez, sendo possível neutralizar a alta acidez de qualquer óleo oxidado, tornando-o apto a ser utilizado como matéria-prima para a produção de biodiesel.

CONCLUSÕES

Diferentes óleos vegetais de índice de acidez maior que 1,4 mg de KOH/g foram submetidos a uma das etapas de refino de óleos e gorduras, denominada neutralização. O método de neutralização proposto foi eficiente para óleo bruto de origens diferentes. A redução média do índice de acidez foi de 84,36%. O intervalo de confiança deste método é 81,3 - 87,3 %. Sendo assim, é possível neutralizar a alta acidez de qualquer óleo oxidado, tornando-o apto a ser utilizado como matéria-prima para a produção de biodiesel por transesterificação alcalina.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, F. D. S.; CHAVES, M. H.; ARAÚJO, E. C. E. **Caracterização do óleo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)** In: Congresso Internacional de Agroenergia e Biocombustíveis - Energia de Resultados, Teresina, 2007.
- ARAÚJO, J. B. et al., **Índice De Acidez Do Óleo De Quatro Cultivares De Mamona Extraído Por Mini-Prensa Laboratorial**. In: anais do 2º Congresso Brasileiro de Mamona, Aracajú, 2006.

MARTINS, G. B. C.; MELLO, V. M. SUAREZ, P. A. Z. Processos Térmicos em Óleos e Gorduras. **Quim.** v. 5, n. 1, 2013.

MENEGHETTI, S. P.; MENEGHETTI, M. R.; BRITO, Y. C. Reação de Transesterificação, Algumas Aplicações e Obtenção de Biodiesel. **Quim.** v. 5, n. 1, 2013.

MONTENEGRO, M. A. et al., Aproveitamento de Óleos e Gorduras Residuais para Obtenção de Produtos de Alto Valor Agregado: Formulação de Tinta de Impressão a Partir de Óleo Residual de Fritura. **Quim.** v. 5, n. 1, 2013.

MORAIS, S. F. A. et al., Síntese e Estabilização de Nanopartículas de Ouro em Óleo de Mamona. **Revista Virtual de Química** v. 5, n. 1, 2013.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** São Paulo, Ed. Varela, 149 p., 1998.

PAIVA, E. J. M. **Estudo da Produção de Biodiesel a partir de Óleo de Babaçu e Etanol utilizando a Transesterificação Alcalina Tradicional com Agitação Mecânica e Assistida por Ultrassons.** 2010. Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Engenharia química. Universidade de São Paulo. USP.Lorena, SP.2010.

PENHA, M. DA N. C. et al. **Caracterização físico-química da semente e óleo de pinhão manso (*Jatropha curcas*) cultivado no Maranhão.**

D i s p o n í v e l e m <http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Documento/JatrophaContrataciones/CARACTERIZACIONFISICO-QUIMICA-BRASIL.pdf>. Acessado em 20/09/2014.

PIMENTA, T. V.; ANTONIASSI, R. e ANDRADE, M. H. C. **Neutralização do óleo da polpa de macaúba.** In: 4º Congresso da rede brasileira de tecnologia de biodiesel, 7º Congresso brasileiro de plantas oleaginosas, óleos, gorduras e biodiesel. Belo Horizonte, MG. 2010.

PINHO, D. M. M.; SUAREZ, P. A. Z. A Hidrogenação de Óleos e Gorduras e suas Aplicações Industriais. **Revista Virtual de Química** v. 5, n. 1, 2013.

RAMALHO, H. F. SUAREZ, P. A. Z. A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. **Revista Virtual de Química** v. 5, n. 1, 2013.

SILVA, T. A. R.; NETO, W. B. Estudo da Redução da Acidez do Óleo Residual para a Produção de Biodiesel Utilizando Planejamento Fatorial Fracionado. **Revista Virtual de Química** v. 5, n. 5, 2013.

UMPIERRE, A. P.; MACHADO, F. Glicerocquímica e Valorização do Glicerol. **Revista Virtual de Química** v. 5, n. 1, 2013.

ZUMACH, F. C. et al., Determinação das variáveis que afetam a neutralização do Óleo de pinhão manso. Revista **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 8, n. 15, 2012.

Alternativas mais seguras para a reação de bromação em pequena escala: bromação do lapachol

Safer alternative to bromination reaction in benchtop-scale: bromination of lapachol

Mariana Nogueira Vivas Cardoso e Raphael Salles Ferreira Silva*

*Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro,
Núcleo de Ciências Químicas, Campus Rio de Janeiro
raphael.silva@ifrj.edu.br

Submetido em 06/07/2015; Versão revisada em 10/08/2015; Aceito em 11/08/2015

Resumo

A reação de bromação do lapachol empregando Br_2 em clorofórmio produz a bromo- β -lapachona em 63% de rendimento. Entretanto o bromo é extremamente tóxico o que justifica a procura de métodos que não utilizem Br_2 como agente de bromação. Nesse trabalho foram utilizados como agentes de bromação, Br_3^- suportado em polímero e ácido tribromo-isocianúrico. As reações foram realizadas empregando etanol como alternativo para o igualmente tóxico clorofórmio. A reação empregando Br_3^- suportado em polímero forneceu a bromo- β -lapachona em 56% de rendimento. Apesar do rendimento obtido com Br_3^- suportado em polímero ser inferior ao obtido com Br_2 , a manipulação do polímero sólido contendo o reagente junto com o uso do etanol em lugar do clorofórmio fazem esse método mais seguro e para o preparo da bromo- β -lapachona. A reação com o ácido tribromo-isocianúrico produziu principalmente β -lapachona.

Palavras-chave: bromo- β -lapachona; Br_3^- /polímero; ácido tribromo-isocianúrico.

Abstract

Bromination of lapachol using Br_2 in chloroform furnishes bromo- β -lapachone with 63% yield. However bromine is extremely toxic what justifies the search for methods which not using Br_2 as brominating agent. In this work were used Br_3^- on polymer support and tribromoisocyanuric acid (TBCA) as brominating agents. The reactions were carried out using ethanol as an alternative to the equally toxic chloroform. The reaction employing Br_3^- on polymer support provided the bromo- β -lapachone with 56% yield. Although the yield obtained with Br_3^- on polymer support was lower than that obtained with Br_2 , handling of the solid polymer containing the reagent and the use of ethanol instead of chloroform make it a more safe method for the preparation of bromo- β -lapachone. The reaction with tribromoisocyanuric acid furnished β -lapachone as the main product.

Keywords: bromo- β -lapachone; Br_3^- /polímero; ácido tribromo-isocianúrico.

INTRODUÇÃO

A β -lapachona é uma naftoquinona natural encontrada na madeira de espécies de *Tabebuia*, teve a sua síntese realizada a partir do lapachol,

outra naftoquinona natural isolada das mesmas espécies que a β -lapachona, por Hooker em 1892 (HOOKER 1982). Esta naftoquinona possui várias atividades biológicas atuando principalmente em processos de estresse oxidativo, já foram relatadas

suas atividades antibacteriana, antifúngica, antimalarial, tripanocida e antitumoral (DA SILVA, FERREIRA & DE SOUZA 2003; DE CASTRO, EMERY, & DA SILVA JÚNIOR 2013; JEON et al. 2015).

A bromo- β -lapachona, um análogo sintético da β -lapachona apresenta atividade citotóxica para leucemia (PÉREZ-SACAU et al. 2007) ou pode ser utilizada como material de partida para a obtenção de derivados aminados por substituição do átomo de bromo. A bromo- β -lapachona foi sintetizada ainda no século XIX pela reação de adição de Br₂ em clorofórmio com 63% de rendimento (HOOKER 1892).

O uso de Br₂ líquido para reação de bromação é um método consagrado de síntese de compostos orgânicos bromados. Entretanto seu uso tem ficado muito restrito devido a sua toxidez, o bromo pode ser mortal por inalação, provoca queimaduras graves na pele, em caso de contato com os olhos causa lesões que podem levar a cegueira. Quanto ao meio ambiente, o bromo também é extremamente tóxico para organismos aquáticos que pode causar sérios danos ambientais, o que justifica a procura de métodos que não utilizem Br₂ líquido como agente de bromação.

A *N*-bromo-succinimida é um agente de bromação que além de ser uma fonte de bromo eletrofílico também produz bromo radicalar, utilizado em várias reações, como síntese de bromo-hidrinas, bromação alílica, rearranjo de Hoffman, oxidação de alcoóis entre outras (KOLVARI et al. 2013).

O ácido tribromo-isocianúrico (ATBC) é preparado a partir da reação do ácido cianúrico com KBr e oxone (DE ALMEIDA, ESTEVES & DE MATTOS, 2006), esse reagente apresenta potencial sintético pois já foi eficientemente empregado para a síntese de dibrometos vicinais (TOZETTI ET AL. 2007) e para a conversão de ácidos carboxílicos em compostos bromados via halo-descarboxilação, reação de Hunsdiecker, (SODRÉ, ESTEVES & DE MATTOS 2013). Reações envolvendo ATBC

geralmente envolvem condições brandas como temperatura ambiente e funcionam bem em meio aquoso ou com solventes menos agressivos ambientalmente como etanol o que o torna atrativo para o desenvolvimento de processos inseridos no conceito de Química Verde. O ATBC também possui potencial como reagente analítico já que foi eficientemente empregado para a distinção de alcoóis primários, secundários e terciários (CRESPO, DE MATTOS & ESTEVES, 2013).

O íon tribrometo suportado em polímero é disponível comercialmente, e consiste numa alternativa segura ao bromo líquido com exemplos de uso relatados na literatura (SMITH ET AL. 1992; GOPALAKRISHNAN ET AL. 2013).

Esse trabalho tem como objetivo a síntese da bromo- β -lapachona por agentes alternativos de bromação, como alternativa os reagentes Br₂ e clorofórmio devido a sua elevada toxicidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes

O lapachol e padrões da bromo- β -lapachona e β -lapachona foram fornecidos via doação do Laboratório de Química Heterocíclica Antonio Ventura Pinto situado no Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

O ácido tribromo-isocianúrico foi fornecido via doação do Prof. Dr. Pierre Mothé Esteves do Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

O íon tribrometo suportado em polímero foi adquirido comercialmente pela empresa Sigma-Aldrich LTDA.

Identificação e elucidação estrutural

As reações foram monitoradas por cromatografia em camada fina (CCF) com padrões autênticos da bromo- β -lapachona e β -lapachona.

Além das análises por cromatografia em

camada fina (CCF) com padrões autênticos da bromo- β -lapachona e β -lapachona, a confirmação das estruturas dos produtos obtidos nas reações, bromo- β -lapachona e β -lapachona, foram analisados por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H -RMN) e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (IV-FT).

As análises por ^1H -RMN foram realizadas em um Espectrofotômetro de Ressonância Magnética Nuclear por Transformada de Fourier de campo baixo-90 MHz- marca Anasazi. (Indianapolis, IN, EUA).

As análises por IV-FT foram realizadas em um equipamento de Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier modelo Alpha marca Bruker (Billerica, MA, EUA).

Os produtos obtidos apresentaram dados espectroscópicos de acordo com os dados descritos na literatura. (SINGH et al. 2008; GUPTA & KHANNA 1980)

Beta-lapachona:

2,2-dimetil-3,4-di-hidro-2H-benzo[h]-cromeno-5,6-diona

IV (sólido) 3550, 2909, 1751, 1680,1460, 1361, 1270 cm^{-1}

^1H NMR (90 MHz, CDCl_3) d: 8.00 (dd, J= 1.8 Hz, 1H), 7.83 (dd, J= 1.8 Hz, 1H), 7.65 (dt, J= 1.8 Hz, 1H), 7.55 (dt, J= 1.8 Hz, 1H), 2.59 (t, J= 6.6 Hz, 2H), 1.87 (t, J= 6.5 Hz, 2H), 1.48(s, 6H).

Bromo-Beta-lapachona:

3-bromo-2,2-dimetil-3,4-di-hidro-2H-benzo[h]-cromeno-5,6-diona

IV (sólido) 3526, 3479, 2625, 1726, 1670,1460, 1361, 1270 cm^{-1}

^1H NMR (90 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (t, J= 8.0 Hz, 1 H), 7.82 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.68 (q, J = 7.50 Hz, 1 H), 7.53 (q, J= 7.6 Hz, 1 H), 4.26 (m, 1 H), 3.20 (m, 1 H), 3.00 (m, 1 H), 1.63 (d, J= 9.6 Hz, 3 H), 1.60 (d, J= 9.6 Hz, 3 H);

Reação do lapachol com ácido tribromo-isociaúrico

Lapachol (242 mg, 1 mmol) foi dissolvido em 5 mL de etanol, ácido tribromo-isociaúrico (126 mg, 0,34 mmol) foi adicionado a solução em pequenas porções sob agitação. Após o tempo de 30 minutos o etanol foi evaporado e o resíduo sólido formado foi submetido a isolamento por cromatografia em coluna de gel de sílica a média pressão (cromatografia "flash") em modo isocrático empregando com eluente solução de hexano/acetato de etila na proporção de 85:15. Foram obtidos 215 mg de β -lapachona (90%) e 28 mg de bromo- β -lapachona (9%).

Reação do lapachol com tribrometo suportado em polímero

Lapachol (242 mg, 1 mmol) e 1 g de tribrometo suportado em polímero (1,4 mmol de Br_3^- /g de polímero) foram adicionados a 5 mL de etanol, a reação permaneceu a temperatura ambiente por 30 minutos. A reação foi filtrada para a retirada do polímero e o etanol foi evaporado e o resíduo sólido formado foi submetido a isolamento por cromatografia em coluna de gel de sílica a média pressão (cromatografia "flash") em modo isocrático empregando com eluente solução de hexano/acetato de etila na proporção de 85:15. Foram obtidos 106 mg de β -lapachona (42%) e 178 mg de bromo- β -lapachona (56%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A *N*-bromo-succinimida (NBS) foi empregada por outros pesquisadores para a síntese da bromo- β -lapachona, mas forneceu uma mistura de vários produtos sendo a bromo- β -lapachona obtida em baixos rendimentos (PÉREZ-SACAU et al. 2007; FERREIRA, PINTO & PINTO 1990; GUPTA & KHANNA 1980). A reação empregando Br_3^- suportado em polímero forneceu a bromo- β -lapachona em 56% de rendimento e a β -lapachona

Prof. Dr. Pierre Mothé Esteves (IQ/UFRJ) pelo fornecimento do ácido tribromo-isocianúrico.

Os autores também agradecem ao CNPq, ao IFRJ pelo apoio financeiro (Edital PROCIÊNCIA) e pela bolsa de estudos de Mariana N. V. Cardoso (Edital PIBICT).

Este artigo é dedicado à memória do Prof. Dr. Antonio Ventura Pinto no 70º ano de seu nascimento.

REFERÊNCIAS

- CRESPO, L. T. C.; MATTOS, M. C. S. DE; ESTEVES, P. M., The use of tribromoisocyanuric acid to distinguish among primary, secondary and tertiary alcohols. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 320-3, 2013.
- DE CASTRO, S. L.; EMERY, F. S.; DA SILVA JÚNIOR, E. N. Synthesis of quinoidal molecules: strategies towards bioactive compounds with an emphasis on lapachones. **European journal of medicinal chemistry**, v. 69, p. 678–700, nov. 2013.
- DA SILVA, M. N.; FERREIRA, V. F.; DE SOUZA, M. C. B. V., Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -Lapachona e derivados **Química Nova**, v. 26, p. 407-16, 2003.
- DE ALMEIDA, L.; ESTEVES, P.; DE MATTOS, M., Tribromoisocyanuric Acid: A New Reagent for Regioselective Cobromination of Alkenes. **Synlett**, v. 2006, n. 10, p. 1515–18, 2006.
- FERREIRA, V. F.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. NBS bromination reactions of dihydronaphthofuran quinones: a new fragmentation type reaction in the chemistry of quinones. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 62, n. 4, p. 329–33, 1990.
- GOPALAKRISHNAN, G.; KASINATH, V.; SINGH, N. D. P.; KRISHNAN, V. P. S.; SOLOMON, K. A.; RAJAN, S. S., Microwave assisted regioselective bromomethoxylation of alkenes using polymer supported bromine resins. **Molecules**, v. 7, n. 5, p. 412–19, 2002.
- GUPTA, R. B.; KHANNA, R. N. Bromination with N-bromosuccinimide: Part III. Formation of 3'-bromo- β -lapachone, dehydro-iso- β -lapachone and 4'-bromo-iso- β -lapachone from lapachol **Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry**, v. 19B, p. 17-19, 1980.
- HOOKE, S. C., LVII. The constitution of lapachic acid (lapachol) and its derivatives. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 61, p. 611, 1892.
- JEON, Y.-J.; BANG, W.; SHIN, J.-C.; PARK, S.-M.; CHO, J.-J.; CHOI, Y. H.; SEO, K. S.; CHOI, N.-J.; SHIM, J.-H.; CHAE, J.-I. Downregulation of Sp1 is involved in β -lapachone-induced cell cycle arrest and apoptosis in oral squamous cell carcinoma. **International journal of oncology**, v. 46, n. 6, p. 2606–12, 2015.
- KOLVARI, E.; KOUKABI, N.; KHORAMABADI-ZAD, A.; SHIRI, A.; ZOLFIGOL, M. A. Alternative methodologies for halogenation of organic compounds. **Current Organic Synthesis**, v. 10, n. 6, p. 837-63, 2013.
- PÉREZ-SACAU, E.; DÍAZ-PEÑATE, R. G.; ESTÉVEZ-BRAUN, A.; RAVELO, A. G.; GARCÍA-CASTELLANO, J. M.; PARDO, L.; CAMPILLO, M. Synthesis and pharmacophore modeling of naphthoquinone derivatives with cytotoxic activity in human promyelocytic leukemia HL-60 cell line. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, n. 4, p. 696–706, 2007.
- SINGH, P.; KHANDELWAL, P.; HARA, N.; ASAI, T.; FUJIMOTO, Y. Radermachol and naphthoquinone derivatives from *Tecomella undulata*: Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of radermachol with the aid of computational ¹³C shift prediction. **Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 1865–1870, 2008.
- SMITH, K.; JAMES, D. M.; MATTHEWS, I.; BYE, M. R., Selective para-bromination of phenols via a regenerable polymer-bound tetraalkylammonium tribromide. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, n. 15, p. 1877–78, 1992.
- SODRÉ, L. R.; ESTEVES, P. M.; DE MATTOS, M. C. S., A Green Hunsdiecker Reaction of Cinnamic Acids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 2, p. 212–18, 2013.
- TOZETTI, S. D. F.; DE ALMEIDA, L. S.; ESTEVES, P. M.; DE MATTOS, M. C. S. Trihaloisocyanuric Acids/NaX: An environmentally friendly system for vicinal dihalogenation of alkenes without using molecular halogen. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 4, p. 675–77, 2007.

NOVAS NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS À REVISTA DE QUÍMICA INDUSTRIAL

(aprovadas pelo Conselho Editorial em 14 de setembro de 2014)

A Revista de Química Industrial (RQI) publica artigos técnico-científicos relacionados à área industrial e à pesquisa, desenvolvimento e inovação (P&D&I), inclusive o desenvolvimento de técnicas analíticas. Também publica resenhas de livros e outros tópicos das áreas de engenharia química e da química industrial.

Serão aceitos estudos de caso quando contribuírem para aumentar o entendimento acerca de aspectos como riscos à saúde, impactos ambientais, ecoeficiência, emprego de novos materiais etc.

São também bem-vindos artigos versando sobre Educação e História da Química que estabeleçam um elo com a área industrial.

INSTRUÇÕES GERAIS

a) A submissão de um artigo à RQI implica que ele não foi previamente publicado, salvo na forma de resumo ou parte de um trabalho acadêmico (monografia, dissertação, tese), não está sendo submetido simultaneamente a outra revista e não será submetido futuramente, caso aceito para publicação na RQI. Subentende-se que o autor responsável pela submissão tem o consentimento dos demais coautores e das respectivas instituições a que pertençam. Os autores ficam desde já cientes de que todos os direitos autorais do artigo submetido pertencerão à Associação Brasileira de Química, caso o mesmo seja aceito para publicação.

b) Os artigos poderão ser escritos em Português ou Inglês. No caso de artigos em língua inglesa, o texto que não possuir qualidade mínima apropriada a uma publicação em periódico será devolvido aos autores.

c) Todos os artigos devem ser digitados em fonte Arial corpo 11, espaçamento 1,5 entre linhas, margens 2,5 cm e alinhamento justificado. O arquivo deve estar em um dos formatos .doc, .docx ou .rtf e não pode conter qualquer tipo de marcação.

d) A primeira página deverá conter na parte superior o título do artigo (em português e inglês), os nomes completos dos autores e suas respectivas instituições de vínculo (nome e endereço completo, incluindo cidade, estado e país). O autor responsável pelo artigo deve incluir um e-mail de contato. A seguir, deverá constar o resumo, limitado a 150 palavras, três palavras-chave (separadas por vírgulas) e a tradução de ambos para a língua inglesa (abstract, keywords). O resumo deve citar sucintamente o propósito do artigo, os resultados mais relevantes e as conclusões principais.

e) Os artigos submetidos devem enquadrar-se em uma das categorias abaixo:

Artigo completo: refere-se a estudos completos e inéditos. Deve ser estruturado de acordo com a ordem: Introdução - Materiais e métodos - Resultados e discussão - Conclusões - Agradecimentos - Referências.

Comunicação: também se refere a estudo inédito, mas com uma quantidade reduzida de dados experimentais que, contudo, possuem impacto significativo para justificar uma publicação.

Nota técnica: seção destinada à divulgação de métodos analíticos, técnicas laboratoriais ou industriais e aparelhagens desenvolvidas pelos autores do artigo. Deve seguir a mesma estrutura apresentada para os artigos completos.

Revisão: serve à divulgação do estado da arte de uma determinada área da química pertinente ao escopo da RQI.

Opinião: pesquisadores e profissionais renomados de uma determinada área da química abrangida pela RQI podem, a exclusivo convite do Editor, ser convidados a redigir um artigo versando sobre pontos específicos de suas áreas, tais como: política industrial, perspectivas econômicas, mercado de trabalho, investimentos em P&D&I etc.

Para a preparação de seu artigo, a íntegra das normas de submissão pode ser consultada acessando <http://www.abq.org.br/rqi/instrucoes-para-submissao-de-artigos-tecnicos-cientificos.html>.



SINDIQUIM/RS

**Conduzindo o desenvolvimento da
Indústria Química do Rio Grande do Sul**

Atualmente nossas indústrias estão comprometidas com a sustentabilidade do planeta através da Química Verde que provém da natureza e de onde surge a química para o nosso cotidiano.



SINDICATO DAS INDÚSTRIAS QUÍMICAS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL
Avenida Assis Brasil, 8787 – Sistema FIERGS/CIERGS
Fone: (51) 3347-8758 – Fax: (51) 3331-5200 – CEP 91140-001 – Porto Alegre – RS
e-mail: sindiquim-rs@sindiquim.org.br – site: www.sindiquim.org.br